



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

INSTITUTO DE CIENCIAS

CENTRO DE AGROECOLOGÍA

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA  
EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS**

**Obtención, caracterización de extractos vegetales y evaluación de  
mortalidad y repelencia en *Tetranychus urticae* Koch  
(Acari: Tetranychidae)**

**PRESENTA**

MITCHEL RIVERA HERNÁNDEZ

**COMITÉ TUTORAL**

DIRECTOR

DR. JESÚS FRANCISCO LÓPEZ OLGUÍN

CODIRECTOR

DR. JUAN JOSÉ LUNA GUEVARA

ASESORES

DRA. BETZABETH CECILIA PÉREZ TORRES

DR. AGUSTÍN ARAGÓN GARCÍA

Puebla, Puebla, noviembre de 2023




La presente tesis, titulada: **“Obtención, caracterización de extractos vegetales y evaluación de mortalidad y repelencia en *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae),”** realizada por el alumno **IAL. Mitchel Rivera Hernández**, bajo la dirección del Comité Tutorial indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

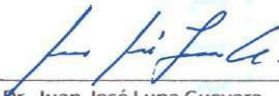
MAESTRO EN CIENCIAS EN  
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORIAL:

DIRECTOR: \_\_\_\_\_

  
Dr. Jesús Francisco López Olguín

CO-DIRECTOR: \_\_\_\_\_

  
Dr. Juan José Luna Guevara

ASESOR: \_\_\_\_\_

  
Dr. Agustín Aragón García

ASESOR: \_\_\_\_\_

  
Dra. Betzabet Cecilia Pérez Torres

REVISOR EXTERNO: \_\_\_\_\_

  
Dr. Rodolfo Figueroa Brito

Puebla, Pue., noviembre de 2023.

Posgrado en Manejo Sostenible de Agroecosistemas  
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio VAL 1, Km 1.7 carretera a  
San Baltazar Tetela, C.P. 72960,  
San Pedro Zacachimalpa, Puebla  
222 229 55 00 Ext. 1302  
masagro@correo.buap.mx

**“... de sabios es mudar de opinión... Éste es el verdadero método científico.”**

**-H. G. Wells; “El alimento de los dioses”.**

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo económico otorgado durante la estancia en la maestría.

Al Dr. Jonnathan Reyes Pérez, por su motivación y apoyo, sin el cual, este trabajo no pudo haber sido concluido.

A Anaí Reyes, Zaira Ruíz, Karina Traconis, y Rosario Rivera por su amistad, compañía y motivación, además de hacer maravillosa la estancia en el posgrado.

A mis amigos y familia Juan Ramon Cid y Daniel Hernández, así como a mi madre Isabel Hernández por escucharme y apoyarme en todo momento.

A los doctores Jesús Francisco López Olguín, Juan José Luna Guevara, Agustín Aragón y Betsabeth Pérez Torres por su tutoría en el desarrollo experimental, analítico y de redacción en la elaboración del presente trabajo.

Al Dr. Rodolfo Figueroa del Instituto Politécnico Nacional por fungir como revisor externo de la tesis.

Finalmente, a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y el Centro de Agroecología por brindarme las instalaciones y los recursos que disponían para el desarrollo de esta tesis.

# Contenido

Resumen.....	1
Abstract.....	2
1. Introducción .....	3
2. Antecedentes.....	4
3. Marco Teórico .....	6
3.1 La producción agrícola en México .....	6
3.2 La inocuidad alimentaria y el uso de plaguicidas .....	7
3.3 Agroecología .....	8
3.4 Plagas en México .....	8
3.5 <i>Tetranychus urticae</i> Koch (Acari: Tetranychidae).....	9
3.5.1 Morfología, ciclo de vida y alimentación.....	9
3.5.2 Distribución y daños .....	11
3.5.3 Resistencia a plaguicidas .....	11
3.6 Métodos de regulación de plagas .....	12
3.6.1 Control químico para regular poblaciones de <i>Tetranychus urticae</i> .....	12
3.6.2 Control biológico de <i>Tetranychus urticae</i> .....	12
3.6.3 Extractos vegetales para el control de <i>Tetranychus urticae</i> .....	12
3.6.4 Hidrolatos y la regulación de plagas.....	14
3.7 Métodos de obtención de extractos vegetales.....	14
3.7.1 Extracción por disolventes .....	14
3.7.2 Extracción por arrastre de vapor .....	14
3.8 <i>Citrus sinensis</i> (Obseck) (Rutaceae).....	16
3.8.1 Características botánicas de <i>Citrus sinensis</i> .....	16
3.8.2 Compuestos presentes en el pericarpio de <i>Citrus sinensis</i> .....	17
3.8.3 Distribución geográfica.....	17
3.9 <i>Trichilia havanensis</i> (Jacq.) (Maliaceae) .....	17
3.9.1 Características botánicas de <i>Trichilia havanensis</i> .....	18
3.9.2 Compuestos bioactivos presentes en <i>Trichilia havanensis</i> .....	18
3.9.3 Distribución geográfica.....	18
4. Justificación .....	19
5. Objetivos .....	19

5.1	Objetivo general .....	19
5.2	Objetivos específicos .....	19
6.	Hipótesis.....	20
7.	Plan de trabajo .....	20
8.	Materiales y métodos .....	21
8.1	Obtención de extractos vegetales .....	21
8.1.1	Naranja ( <i>Citrus sinensis</i> ) .....	21
8.1.2	Ciruelillo ( <i>Trichilia havanensis</i> ).....	21
8.2	Caracterización de extractos vegetales.....	23
8.2.1	Actividad antioxidante.....	23
8.2.2	Composición química de los extractos vegetales .....	23
8.3	Cría de <i>Tetranychus urticae</i> y siembra del material vegetal para bioensayos .....	23
8.4	Diseño de tratamientos y unidad experimental .....	25
8.5	Evaluación de la viabilidad de huevos y la mortalidad en larvas y adultos de los tratamientos en laboratorio. ....	25
8.5.1	Preparación de soluciones .....	25
8.5.2	Bioensayos en huevos .....	27
8.5.3	Bioensayos en larvas neonatas .....	28
8.5.4	Bioensayos en adultos .....	28
8.6	Evaluación de la actividad repelente de extractos vegetales en larvas neonatas y adultos en condiciones de laboratorio. ....	29
8.6.1	Bioensayos en larvas neonatas .....	29
8.6.2	Bioensayos en hembras adultas .....	30
8.7	Análisis de datos .....	31
9.	Resultados y discusión .....	31
9.1	Extracción y preparación de las muestras de <i>Citrus sinensis</i> y <i>Trichilia havanensis</i> .....	31
9.1.1	Caracterización de material vegetal .....	31
9.1.2	Obtención de extractos .....	31
9.2	Caracterización de los extractos vegetales.....	33
9.2.1	Actividad antioxidante.....	33
9.2.2	Densidad.....	33
9.2.3	Composición .....	34
9.3	Evaluación de mortalidad .....	38
9.3.1	Actividad ovicida.....	39

9.3.2 Actividad larvicida.....	40
9.3.3 Actividad en adultos.....	41
9.4 Evaluación de la actividad repelente.....	42
9.4.1 Repelencia en larvas neonatas .....	42
9.4.2 Repelencia en hembras adultas.....	43
10. Conclusiones .....	44
11. Recomendaciones .....	45
12. Bibliografía .....	45

## Índice de figuras

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Tetranychus urticae</i> .....	10
Figura 2. Clorosis provocada por la infestación de <i>Tetranychus urticae</i> en una planta de frijol.....	10
Figura 3. Equipo de hidroddestilación.....	15
Figura 4. Etapas del plan de trabajo en el desarrollo de la investigación.....	20
Figura 5. Maceración etanólica de semilla de <i>Trichilia havanensis</i> .....	22
Figura 6. Obtención de extracto puro de <i>Trichilia havanensis</i> .....	22
Figura 7. Cría de <i>Tetranychus urticae</i> .....	24
Figura 8. Planta de frijol para cría de <i>Tetranychus urticae</i> .....	24
Figura 9. Cría de <i>Tetranychus urticae</i> en hojas de frijol.....	25
Figura 10. Unidad experimental usada en los bioensayos.....	26
Figura 11. Unidades experimentales en cámara de cría.....	26
Figura 12. Tratamientos de <i>Trichilia havanensis</i> en sus diferentes concentraciones.....	27
Figura 13. Tratamientos de <i>Citrus sinensis</i> en sus diferentes concentraciones.....	27
Figura 14. Disco foliar con hembras de <i>Tetranychus urticae</i> .....	29
Figura 15. Unidad experimental utilizada en las evaluaciones de repelencia.....	30
Figura 16. Cromatograma obtenido del análisis por CG/EM de la fracción del extracto de <i>Citrus sinensis</i> .....	35
Figura 17. Cromatograma obtenido del análisis por CG/EM de la fracción del extracto de <i>Trichilia havanensis</i> .....	38

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1. Fuentes de obtención, compuestos activos y modo de acción de los plaguicidas botánicos más representativos.....</b>	<b>13</b>
<b>Tabla 2. Compuestos bioactivos presentes en <i>Citrus sinensis</i>.....</b>	<b>17</b>
<b>Tabla 3. Resultados del proceso de extracción por arrastre de vapor de los extractos vegetales de <i>Citrus sinensis</i> y <i>Trichilia havanensis</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 4. Compuestos presentes en el extracto de <i>Citrus sinensis</i>.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 5. Compuestos presentes en el extracto de <i>Trichilia havanensis</i>.....</b>	<b>36</b>
<b>Tabla 6. Medianas de mortalidad (M) de huevos de <i>Tetranychus urticae</i> tratados con extractos de <i>Citrus sinensis</i> y <i>Trichilia havanensis</i>.....</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 7. Medianas de mortalidad (M) de larvas neonatas de <i>Tetranychus urticae</i> tratados con extractos de <i>Citrus sinensis</i> y <i>Trichilia havanensis</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 8. Medianas de mortalidad (M) de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> tratados con extractos de <i>Citrus sinensis</i> y <i>Trichilia havanensis</i>.....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 9. Medianas de repelencia (M) en larvas neonatas de <i>Tetranychus urticae</i> tratados con extractos de <i>Citrus sinensis</i> y <i>Trichilia havanensis</i>.....</b>	<b>42</b>
<b>Tabla 10. Medianas de repelencia (M) en hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> tratadas con extractos de <i>Citrus sinensis</i> y <i>Trichilia havanensis</i>.....</b>	<b>43</b>

## Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de los extractos de pericarpio de *Citrus sinensis* y semillas de *Trichilia havanensis* en la mortalidad y repelencia de diferentes estados biológicos de *Tetranychus urticae* en condiciones de laboratorio. Soluciones preparadas con los extractos en concentraciones de 500, 1000 y 1500 mg.L<sup>-1</sup> fueron aplicadas a un número conocido de huevos, larvas y hembras adultas de *T. urticae* en discos foliares de frijol (*Phaseus vulgaris* L.). El análisis de los datos del porcentaje mortalidad y repelencia (prueba de Kruskal Wallis ( $\alpha=0.05$ )) mostraron que el extracto de *T. havanensis* ocasionó la mortalidad de huevos más alta con el 45 % a 1500 mg.L<sup>-1</sup>, el extracto de *C. sinensis* presentó el mayor porcentaje de mortalidad en larvas y adultos con el 40.0 % a 1000 mg.L<sup>-1</sup> y 50.0 % a 1500 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. El extracto de *C. sinensis* mostró el mayor porcentaje de repelencia con el 30.0 % en larvas y 60.0 % en adultos a 1500 mg.L<sup>-1</sup>. Los resultados indican que los extractos tienen el potencial de desarrollar productos efectivos para el manejo de *T. urticae*.

**Palabras clave:** mortalidad en huevos, repelencia en larvas, caracterización química, extracto vegetal.

## Abstract

This work aimed to evaluate the effect of the plant extract from the peel of *Citrus sinensis* and the seeds of *Trichilia havanensis* on mortality and repellency in different biological states of *Tetranychus urticae* under laboratory conditions. Solutions of the extracts at 500, 1000 and 1500 mg.L<sup>-1</sup> were applied to a known number of eggs, larvae, and female adults of *T. urticae* in foliar discs of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The data analysis of mortality percentage and the repellence (Kruskal-Wallis test and comparison of medians, ( $\alpha=0.05$ ) showed that the extract of *T. havanensis* presented the highest percentage of mortality in eggs with 45.0 % at 1500 mg.L<sup>-1</sup>, and the extract of *C. sinensis* presented the highest mortality in larvae with 40.0 % at 1000 mg.L<sup>-1</sup>, and adults with a 50.0 % at 1500 mg.L<sup>-1</sup>. The highest percentage of repellency was the extract of *C. sinensis* at 1500 mg.L<sup>-1</sup>, with 30 % in larvae and 60.0 % in adults. The results indicate that the extracts have the potential to develop effective products for managing *T. urticae*.

**Keywords:** Egg mortality, larvae repellency, chemical characterization, vegetal extract.

## 1. Introducción

Entre los riesgos a los que está sujeto un sistema agrícola se encuentra la presencia de diversas plagas que, por su supervivencia, afectan la producción al alimentarse y generan una importante pérdida económica para el productor. Informes de la FAO (2021), indican que las plagas generan una pérdida del 40% en la producción agrícola a nivel mundial.

Así mismo, la presencia de diversas trazas de plaguicidas ha afectado considerablemente la inocuidad de los alimentos, las altas concentraciones utilizadas en los campos de cultivo traen consecuencias no solo al personal que aplica los tratamientos, también a los consumidores. Diversos estudios han evidenciado la presencia de plaguicidas en alimentos, actualmente Brasil es uno de los principales consumidores, con una estimación media de 7 kg al año (Frota & Siqueira, 2021). De igual manera los mismos autores señalan que entre los años 2007 a 2010 se encontró registros de 549 casos de intoxicaciones por alimentos contaminados con plaguicidas.

*Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), es un ácaro conocido comúnmente bajo el nombre de araña o arañita roja, es un ácaro fitófago de la familia Tetranychidae; considerado una de las plagas con mayor incidencia a nivel mundial por afectar un gran número de cultivos (Reséndiz-García & Castillo-Olivas, 2018). Este organismo es de vital importancia debido a la capacidad que tiene para adaptarse a la planta hospedadora y a diferentes condiciones ambientales (Agut *et al.*, 2018). En México se ha reportado su presencia en Campeche, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Tabasco, Veracruz y Yucatán, afectando los cultivos de frijol, zarzamoras y fresas, entre otros (CABI, 2018). Además, ha generado resistencia a diversos plaguicidas de síntesis química; por lo anterior es necesario la búsqueda de alternativas a estos plaguicidas que causan graves daños en la salud y al medio ambiente (Villegas-Elizalde *et al.*, 2010).

Recientes estudios, han demostrado el potencial plaguicida que tienen los extractos vegetales por la diversidad de compuestos bioactivos que los constituyen, como terpenos y sesquiterpenos, dicho efecto es debido a la capacidad de escindir (escindir= dividir en dos o más partes) la capa grasa de ciertos exoesqueletos así como inhibir la actividad enzimática en los procesos celulares de diversos artrópodos; esta característica los posiciona como una alternativa al uso de agroquímicos, puesto que no generan un impacto adverso al medio ambiente ni a la salud humana, así como a los productos en los que se han probado (Durán-Lara *et al.*, 2020).

La naranja *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Rutaceae) es una de las frutas más importantes en México, cubriendo una superficie de 339 mil hectáreas y una producción de 4,738,000 toneladas tan solo en 2018, siendo Veracruz uno de los principales productores en la República Mexicana (SIAP, 2020). Los residuos generados por la utilización de la pulpa de la naranja son muy poco usados en la elaboración del compostaje por la acidificación al medio y las desventajas que presenta. Un uso alternativo de la cáscara es la obtención de su extracto natural que sirve para la elaboración de diversos productos en la industria farmacéutica, cosmetológica y alimenticia (Yañez *et al.*, 2007; Hernández-Carillo *et al.*, 2015).

Así mismo, *Trichilia havanensis* Jaq. (Meliaceae) tiene múltiples usos entre los que se destaca la extracción de aceite comestible y el uso del fruto como un método de protección del maíz durante la germinación contra el ataque de insectos, aves y roedores en la comunidad totonaca de la Sierra de Puebla; además de utilizar las hojas para repeler insectos que dañan el grano durante el almacenamiento (Arenas & Rodríguez-Hahn, 1990; López-Olguín *et al.*, 1997). Además del gran valor cultural que posee por su uso en ceremonias religiosas en diversas comunidades indígenas del país, así como su capacidad repelente de plagas (Villavicencio-Nieto *et al.*, 2010) dichas características lo hacen una opción viable para la producción de plaguicidas.

Es ante esta problemática que el presente trabajo de investigación tuvo como propósito evaluar la capacidad ovicida, larvicida, acaricida y repelente de los extractos provenientes de *C. sinensis* y *T. havanensis* sobre *T. urticae* en condiciones de laboratorio como información para el desarrollo de un método de regulación de esta plaga de interés agrícola.

## 2. Antecedentes

Los componentes bioactivos presentes en los extractos de *C. sinensis* han sido evaluados en diversas plagas y sus efectos han sido atribuidos a los compuestos constituyentes de esos extractos. Un ejemplo de ello es la investigación realizada por Majeed *et al.* (2018), que evaluaron los extractos acetónicos y etanólicos de *Azadirachta indica* (A. Juss), *Citrus aurantium* (L.), *C. sinensis* y *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnh) contra la cochinilla *Pseudococcus viburni* Signoret (Hemiptera; Pseudococcidae), concluyendo que los compuestos bioactivos en estas especies vegetales fueron eficaces para la disminución de la población de este

fitófago. En otro estudio, Bnina *et al.* (2019) probaron el extracto vegetal de *C. sinensis* contra especies fitófagas como *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797), *Liposcelis bostrychophila* (Badonnel, 1931) y *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens, 1831) teniendo una eficacia de más del 50% de reducción en las poblaciones de los organismos probados.

El efecto acaricida de *C. sinensis* en *T. urticae*, ha sido observado por Da Camara *et al.* (2015), quienes evaluaron estos extractos vegetales en adultos de la araña roja usando tiras impregnadas con el aceite esencial, demostrando la eficacia del tratamiento al reducir las poblaciones en sus bioensayos a nivel laboratorio. Aissaoui *et al.* (2020), impregnaron discos con extractos de: *C. aurantium* y *C. sinensis* a diferentes concentraciones, teniendo una mortalidad mayor del 50% en larvas y adultos. De Santana *et al.* (2021), probaron la eficacia del aceite esencial de hojas de *C. sinensis*, mezclándolo con dimetilsulfoxido al 0.5%, donde se obtuvo una CL= 50 0.28 mL/L de extracto al impregnarlo en discos de papel filtro.

De la Torre-Anzúrez *et al.* (2017) evaluaron el efecto del extracto etanólico de semillas de *T. havanensis* a diferentes concentraciones sobre la viabilidad y desarrollo de larvas neonatas del gusano soldado *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), mostrando un efecto larvicida. García-Gómez *et al.* (2018) evaluaron la actividad insecticida de tres especies del género *Trichilia* (Meliaceae) en *Copitarsia decolora* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae), se alimentó el estado larval de este fitófago con una dieta suplementaria a diferentes concentraciones de extractos vegetales usando como solventes hexano, acetona, metanol y agua, de la corteza de *Trichilia americana* Sessé & Moc., *Trichilia hirta* L. y *T. havanensis* demostrando que el extracto es un potencial insecticida.

Rodríguez-Cabrera *et al.* (2022) determinaron la efectividad de los extractos etanólicos y hexánicos de semillas de *T. havanensis*, estos resultados presentaron una alta actividad ovicida en *T. urticae* aplicando los extractos de manera directa en discos de hojas de frijol con un aspersor; los huevos presentaron una mortalidad corregida del 58% y 77% a los extractos hexánicos y extractos etanólicos de las semillas, respectivamente.

### 3. Marco Teórico

#### 3.1 La producción agrícola en México

Con la entrada de la revolución verde, la agricultura cambió de manera radical para aumentar la producción agrícola ante una idea equívoca de escasez alimentaria, trayendo como consecuencia fuertes impactos ambientales y a la salud humana (Chilón-Camacho, 2017).

La contaminación de los suelos, agua y el aire fue evidenciada por trabajos como el realizado por García (2019), que señala que el empleo de fertilizantes con alto contenido de nitrógeno está relacionado con la alta cantidad de lixiviación del nitrógeno no absorbido por los cultivos, que llega a aguas subterráneas como nitratos, causando eutroficación. A su vez, el amoníaco cobra importancia sobre la salud, especialmente a los aplicadores de estos fertilizantes ya que, tras abonar, las concentraciones pueden superar las 3,000 ppm y entrar al organismo a través de vías respiratorias o dérmicas causando desde irritación hasta quemaduras o cáncer (ATSDR, 2004). Por otro lado, Martínez-Alva *et al.* (2020), reportan la disminución en los rendimientos de fertilizantes químicos contra fertilizantes orgánicos, mostrando las desventajas que comienzan a provocar la aplicación de estos insumos.

El uso de plaguicidas para la regulación de fitófagos o arvenses han sido una fuente principal de contaminación de agua, suelo y aire. El trabajo realizado por Martínez-Alva *et al.* (2020) señala la existencia de compuestos tóxicos derivados de plaguicidas en muestras de papa provenientes de Toluca, México, entre los que destacan el arsénico, plomo y cadmio como elementos presentes en los plaguicidas más utilizados en suelos agrícolas. Por su parte Hernández-Antonio & Hansen (2011) evidencian la presencia de restos de plaguicidas triazínicos, fenoxiclorados y organoclorados en muestras de suelo y agua en diversas zonas agrícolas de México.

Entre otros problemas, está la disponibilidad de tierra para el uso agrícola, que ha disminuido un 31% entre los años 1985 al 2015 (Sosa-Baldiva & Ruiz-Ibarra, 2017), mostrando a los agricultores la importancia de implementar otras técnicas que mitiguen el daño ocasionado por los paquetes tecnológicos y reducir pérdidas, así como para evitar la dependencia a insumos químicos.

### 3.2 La inocuidad alimentaria y el uso de plaguicidas

Además de los daños al medio ambiente, la salud de los consumidores se ha visto fuertemente afectada por la presencia de elementos provenientes de plaguicidas en productos agrícolas frescos y pecuarios, estos últimos derivados del consumo de forraje rociado con plaguicidas. Un ejemplo de ello es la presencia de compuestos activos en plaguicidas como DDT, endrín y heptacloro en muestras de leche provenientes de la Ciudad de México. Por otro lado, estos mismos compuestos fueron encontrados en muestras de carne de res en las siguientes concentraciones: hexaclorobenceno (HCB) (0.30  $\mu\text{g/g}$ ), heptacloro (0.20  $\mu\text{g/g}$ ), aldrín (0.26  $\mu\text{g/g}$ ) y dieldrín (0.23  $\mu\text{g/g}$ ), al norte de la República (García-Hernández *et al.*, 2018).

En productos vegetales como hortalizas, granos y frutos también se ha encontrado la presencia de diversos contaminantes, como malatión en frijol (0.025  $\mu\text{g/g}$ ), clorpirifos en trigo (0.0058  $\mu\text{g/g}$ ), cipermetrina en chícharo (0.367  $\mu\text{g/g}$ ) y metabolitos del DDT en maíz (0.019  $\mu\text{g/g}$ ) en muestras de diversos puntos del norte del país, presentando concentraciones de cipermetrina por encima del límite máximo de residuos (Aldana-Madrid *et al.*, 20011; García-Hernández *et al.*, 2018). En muestras colectadas en mercados de Sonora se obtuvieron hortalizas en las que el 9% de ellas contenían residuos piretroides (0.004 a 0.57  $\mu\text{g/g}$ ) y de ciflutrín en cebolla (0.57  $\mu\text{g/g}$ ) (Aldana-Madrid *et al.*, 2011).

Los cuerpos de agua también han sido afectados severamente. El estudio más reciente realizado en Yucatán por Rodríguez *et al.* (2017) encontraron la presencia de ciertos contaminantes derivados de plaguicidas organoclorados en diverso cuerpos de agua que son usados para consumo humano en diversas comunidades del estado, compuestos como DDT, heptacloro, endosulfán, aldrín, endrín y sus metabolitos rebasaban los valores permisibles por las Normas Oficiales Mexicanas, algunos resultados reportaron 7.35  $\mu\text{g/mL}$  de  $\alpha$ -endosulfán, 3.69  $\mu\text{g/mL}$  de aldrín, 2.33  $\mu\text{g/mL}$  of 4,4'DDD, 1.43  $\mu\text{g/mL}$  de heptacloro, 1.39 y 1.46  $\mu\text{g/mL}$  of  $\delta$ -lindano y 1.25  $\mu\text{g/mL}$  de dieldrín.

Los efectos perjudiciales en la salud han sido señalados en numerosas ocasiones. Blanco-Muñoz *et al.* (2016) observaron una relación positiva entre las concentraciones de DDT en suero y los niveles de hormonas tiroideas en poblaciones del Estado de México y Morelos. También se ha encontrado una relación entre la madurez placentaria y la exposición de organofosforados, lo que afecta el transporte de nutrientes de la madre al feto (Acosta-Maldonado *et al.*, 2009). Así

mismo, Craig *et al.* (2020) reportan la alteración del sistema nervioso central como consecuencia de estos compuestos.

### **3.3 Agroecología**

La Agroecología es una labor multidisciplinaria que surge como una contrapropuesta a la agricultura convencional, propone asumir la naturaleza como un bien que hay que conservar y a la vez reproducir (Noguera-Talavera *et al.*, 2019). Se fundamenta en la participación y rescate de los conocimientos empíricos de campesinos indígenas sobre la agricultura tradicional para prescindir del uso de agrotóxicos y aprovechar mejor los recursos naturales y el manejo sostenible de los agroecosistemas para la producción de alimentos inocuos, se consideran seis principios básicos para el manejo sostenible de agroecosistemas: (1) la diversificación vegetal y animal a nivel de especies o genética en tiempo y espacio; (2) el reciclaje de nutrientes y materia orgánica; (3) provisión de condiciones edáficas óptimas para crecimiento de cultivos manejando materia orgánica y estimulando la biología del suelo; (4) minimización de pérdidas de suelo y agua manteniendo cobertura del suelo, controlando la erosión y manejando el microclima; (5) minimización de pérdidas por insectos, patógenos y malezas mediante medidas preventivas y estímulo de fauna benéfica, antagonistas, alelopatía y (6) la explotación de sinergias que emergen de interacciones planta-planta, plantas-animales y animales-animales, (Nicholls & Altieri, 2019). El desarrollo de la agroecología se da en 1976, basándose en estudios agronómicos y ecológicos de la agricultura tradicional maya en Yucatán, siendo Efraím Hernández Xolocotzi el primero en concebir el concepto de agroecosistemas; y en 1981, Steve Gliessman definió formalmente la agroecología como el estudio de los fundamentos ecológicos de la agricultura (Astier *et al.*, 2017).

### **3.4 Plagas en México**

Se define el término plaga como: cualquier especie, raza o biotipo vegetal, animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales (FAO, 2021). Por otro lado, se considera como plaga agrícola a cualquier organismo competidor o antagónico con un cultivo, cuya densidad de población sube a niveles críticos y sean capaces de causar daños significativos de manera directa o indirecta a las plantas y a la economía de los productores (Falconi-Palomino, 2013). Los fitófagos son los principales motivos de preocupación en las parcelas de los

agricultores, éstos suelen alimentarse de hojas, tallos, raíces y frutos de los organismos cultivados, impidiendo el desarrollo de la planta (Agut *et al.*, 2018).

En México, los problemas con plagas han estado presentes desde tiempos remotos, en épocas post revolucionarias llegó la langosta *Schistocerca piceifrons* Walker (Ortoptera: Acrididae) a Yucatán y se extendió a lo largo del territorio mexicano, provocando grandes pérdidas en los cultivos de maíz y generando una campaña a nivel nacional para regular su presencia (Ortiz-Yam & Cecilia-Zulueta, 2020). Actualmente las plagas por insectos fitófagos provocan pérdidas de un 40%, entre las que se destacan: el pulgón amarillo, la mosquita blanca, el picudo rojo, la araña roja, gallina ciega, la mosca de la fruta y la larva minadora de hojas (Agrosamex 2019).

### **3.5 *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)**

Su clasificación taxonómica es la siguiente (EPPO, 2020):

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Arachnida

Subclase: Acari

Orden: Prostigmata

Familia: Tetranychidae

Género: *Tetranychus*

Especie: *T. urticae* Koch (1836)

*Tetranychus urticae* conocido comúnmente como araña roja de dos manchas, araña y ácaro rojo, es un ácaro perteneciente a la familia Tetranychidae; este fitófago se establece en un gran número de plantas cultivadas causando daños de importancia económica, dañando incluso malezas y plantas silvestres (Ruiz-Coral *et al.*, 2016).

#### **3.5.1 Morfología, ciclo de vida y alimentación**

La araña roja tiene un aspecto globoso y su color varía de acuerdo con su alimentación; llegan a medir de 0.5 a 0.6 mm. Tiene una distribución espacial agregada y prefiere el envés de la hoja para crear sus colonias; las hembras son capaces de producir cerca de 100 huevecillos; para su desarrollo requiere una temperatura mínima de 26 °C y 40 % de humedad relativa y su ciclo de vida tiene una duración total de 12.2 días en estas condiciones (Reséndiz-García & Castillo-Olivas, 2018). El ciclo de vida se presenta en la Figura 1.

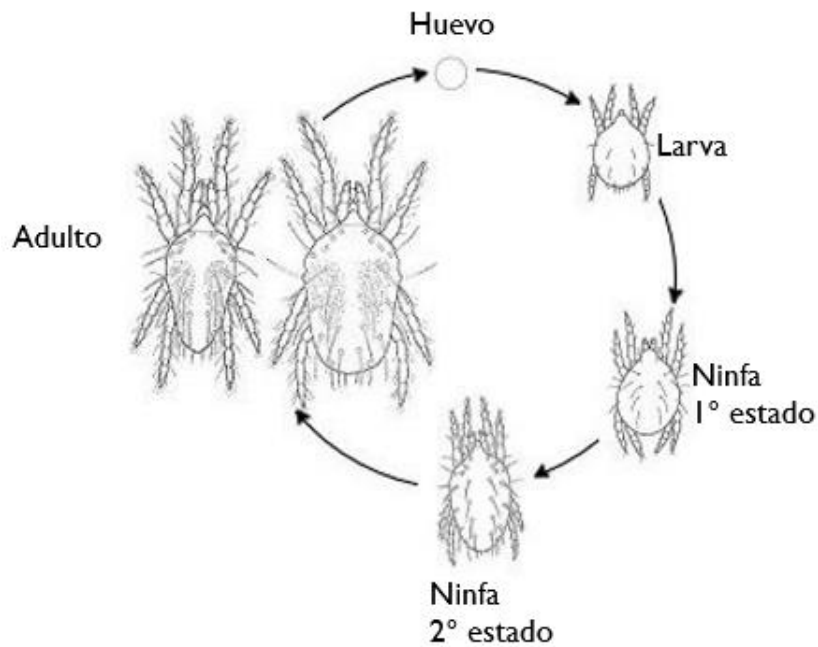


Figura 1. Ciclo de vida de *Tetranychus urticae*.

Este ácaro se alimenta succionando los nutrientes de las plantas después de romper la superficie de la hoja con sus estiletes, afectando el crecimiento de la planta y sus frutos. Los daños que causan se ejemplifican en la Figura 2. Puede detectarse al percibir las coloraciones amarillentas en las hojas, la presencia de seda, restos de sus heces y mudas (Santamaria *et al.*, 2020).



Figura 2. Clorosis provocada por la infestación de *Tetranychus urticae* en una planta de frijol.

Es un organismo considerado como una seria amenaza a la producción agrícola por poseer un ciclo de vida muy corto, además de tener un alto poder reproductivo y una notable resistencia a los plaguicidas (Santamaria *et al.*, 2020).

### **3.5.2 Distribución y daños**

En México, *T. urticae* se localiza en toda la República Mexicana, principalmente en Campeche, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Tabasco, Veracruz y Yucatán, afectando los cultivos de frijol, zarzamoras y fresas, entre otros (CABI, 2018).

El estudio realizado por Lugo-Sánchez *et al.* (2019) demostró que, de los ácaros recolectados en diversos cultivos de jitomate en Sinaloa, *T. urticae* se encontraba presente en todas las etapas del desarrollo del cultivo en un 71.5%. También Díaz-Arias *et al.* (2019) reportó la presencia de este ácaro en diversas plantaciones de rosas en Tenancingo y Villa Guerrero, Estado de México, evaluando su actividad en los cultivos y los daños ocasionados relacionados directamente al número de tallos producidos y el número de pétalos de las flores. En Villa Guerrero, Edo. de México, es la principal plaga en ornamentales tanto en invernadero como a cielo abierto y se han utilizado alrededor 38 acaricidas de los cuales 25 tienen acción insecticida (Aguilar & Rodríguez, 2012; Reséndiz-García & Castillo-Olivas, 2018).

### **3.5.3 Resistencia a plaguicidas**

Como se ha mencionado con anterioridad, *T. urticae* ha pasado a ser una plaga de interés económico y por generar resistencia a diversos plaguicidas de síntesis química. Wu *et al.* (2019) evaluaron el patrón de resistencia de *T. urticae* a los compuestos; abamectin, fenpyroximato y spiroticlofen; demostrando una compleja adaptación a estos compuestos por los genes de desintoxicación metabólica mejorada en el 100%, 50% y 20% de las poblaciones analizadas, respectivamente; la resistencia a bifentrina, bifenazato y etoxazol por insensibilidad al sitio objetivo fue generalizada entre las poblaciones analizadas.

Otro estudio realizado en Brasil, compararon la resistencia de este ácaro a dos acaricidas diferentes, ciflumetofen y diafentiurón, el estudio demostró magnitudes de resistencia superiores a 4000 veces para ciflumetofem y solo 55 veces para diafentiurón (Marçal, 2020). Sato *et al.* (2021) evaluó la resistencia de este ácaro a abamectina y el fenpiroximato, donde se observaron poblaciones con resistencia de entre el cero y 81,3% para la abamectina; y entre cero y 94,5% para fenpiroximato.

### **3.6 Métodos de regulación de plagas**

Existen diversos métodos para la regulación de plagas en los campos de cultivo, y se aplican según el tipo de problema a tratar y el tipo de cultivo, involucrando los siguientes aspectos: grado de infestación, elección del tipo de plaguicida, tipo de plaga a combatir y definir los horarios de control de la plaga (Nuñez, 2007).

#### **3.6.1 Control químico para regular poblaciones de *Tetranychus urticae***

El control químico es el más utilizado por los agricultores debido a la aparente eficacia que suelen presentar, su fácil accesibilidad y costos relativamente bajos. Entre los productos químicos más utilizados en el manejo y control de insectos se tienen agentes coadyuvantes, atrayentes, repelentes, esterilizantes, inhibidores de crecimiento, insecticidas y acaricidas (Cermeli & Díaz, 2016). Los insecticidas organofosforados, el endosulfán, herbicidas (2,4-D, paraquat y glifosato) y fungicidas (clorotalonil y mancozeb) son aplicados con mayor frecuencia (Silveria-Garmont *et al.*, 2018).

#### **3.6.2 Control biológico de *Tetranychus urticae***

En el estudio realizado por Schmidt-Jeffris & Cutulle (2019), se demostró la eficacia de *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseide) para regular las altas densidades de *T. urticae*. Este organismo se alimentó de los huevos, larvas, ninfas y adultos. Los autores recomiendan liberarlo en una proporción 1:42, siendo eficiente para el control de plaga en 24 h. De igual manera, se han usado diversos tipos de microorganismos para el control de *T. urticae*, Ullah & Lim (2017) evaluaron la interacción de *T. urticae* con *Bauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin teniendo una gran influencia en las poblaciones de adultos. Mendoza-Léon *et al.* (2019), evaluaron la actividad que ejerce *Bacillus subtilis* (Cohn) sobre araña roja en hojas de fresa, incrementando la mortalidad de las hembras, en comparación al tratamiento control, concluyendo la posibilidad del uso de esta bacteria para el control de este fitófago.

#### **3.6.3 Extractos vegetales para el control de *Tetranychus urticae***

Los extractos vegetales son mezclas complejas de metabolitos secundarios, aislados de las plantas donde encuentran presentes de manera natural, entre los que se encuentran principalmente terpenos, aldehídos y alcoholes (Flores-Villegas *et al.*, 2019); características tales como el rendimiento y la composición de los compuestos presentes variará en los extractos

vegetales dependiendo del tipo de planta, las características de cultivo a la que fue sometida y la parte que sean extraídos (López-Malo *et al.*, 2005).

El uso de extractos vegetales también ha sido evaluado para el control de fitófagos que representan una amenaza a diversos cultivos. Estos extractos provienen de diferentes partes de la planta como la hojas, corteza, raíces, semillas, rizomas y tallos. Existen diferentes compuestos bioactivos en los diferentes extractos de plantas. En la Tabla 1 se pueden apreciar diferentes compuestos, especie de planta donde pueden obtenerse y su mecanismo de acción.

**Tabla 1. Fuentes de obtención, compuestos activos y modo de acción de los plaguicidas botánicos más representativos.**

<b>Especie (Familia)</b>	<b>Compuestos activos</b>	<b>Modo de acción</b>
<i>Annona squamosa</i> L. (Annonaceae)	Squamocina (annoninas)	Inhibe la acción del complejo mitocondrial III.
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss. (Meliaceae)	Azadiractina, salanina y nimbina (triterpenos)	Inhiben significativamente la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, responsable de terminar la transmisión de los impulsos nerviosos.
<i>Camelia olifeira</i> C. Abel (Theaceae)	Saponinas triterpénicas (saponinas)	Escinden la capa grasa de ciertos exoesqueletos provocando deshidratación.
<i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i> Trevir (Asteraceae)	Cinerinas, jamolinas y pyretrinas (piretrinas naturales)	Ejercen sus efectos tóxicos al interrumpir el intercambio de los iones sodio y potasio en fibras nerviosas.
<i>Nicotiana tabacum</i> L. (Solanaceae)	Nicotina (alcaloides)	Se une a los receptores de acetilcolina provocando una activación nerviosa descontrolada.

Adaptado de (Pavela, 2016)

El trabajo realizado por Alegre *et al.* (2017) se evaluó la toxicidad de los extractos acuosos, etanólicos y hexánicos de las hojas de *Chenopodium quinoa* Willd. El extracto etanólico de *C. quinoa* a una concentración del 20% dio como resultado tasas de mortalidad de 29,6% de *T. urticae*.

Así mismo, Numa *et al.* (2018) evaluaron la capacidad acaricida de los extractos de: *Cnidocolus aconitifolius*, *Copaifera officinalis* y *Anadenanthera peregrina*, todos los extractos ocasionaron

una mortalidad mayor al 60% en ácaros adultos. Toapanta (2021), evaluó tres extractos vegetales: pimiento (*Capsicum annuum* L.), cabuya negra (*Agave americana* L.) y aguacate (*Persea americana* Mill) en hojas de fresa (*Fragaria x annassa* Duchesne) y redujeron la oviposición un 94.47%.

### **3.6.4 Hidrolatos y la regulación de plagas**

Con relación a los extractos acuosos, éstos han sido utilizados en muy pocos estudios, sin embargo, se ha demostrado su eficacia en diversos artrópodos; Hocayen & Pimenta (2013) evaluaron el efecto de carqueja (*Baccharis trimera* Less), albahaca (*Ocimum gratissimum* L.), necroton [*Vernonia condensata* (Backer) H. Rob.], manzanilla [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini), destacando el hidrolato de albahaca, que presentó una eficiencia del 76.7% en mortalidad a una concentración del 100%. Mello *et al.* (2015) evaluaron los extractos de *Rosmarinus officinalis* L.) como regulador de la población de garrapatas en bovinos, demostrando la eficacia de la formulación de hidrolato, teniendo el 62% de morbilidad.

## **3.7 Métodos de obtención de extractos vegetales**

### **3.7.1 Extracción por disolventes**

En este proceso, la muestra seca es colocada en disolventes orgánicos como pueden ser el alcohol y cloroformo, principalmente. Estos solubilizan compuestos esenciales, ceras y grasas obteniendo una oleoresina o extracto impuro, el cual pasa por un proceso para separar el disolvente empleado. Es usado comúnmente en pequeña escala ya que industrialmente resulta costoso debido a los disolventes utilizados y se obtienen ciertos compuestos contaminados con otras sustancias, incrementando la posibilidad de que éstos, hagan combustión (Martínez, 2003).

### **3.7.2 Extracción por arrastre de vapor**

La destilación por arrastre de vapor es un proceso aplicado en la separación de sustancias poco solubles en agua y se emplea para separar una sustancia de una mezcla que posee un punto de ebullición muy alto y que se descomponen al destilar. Esto es por efecto de la temperatura del vapor (100 °C), en un determinado tiempo, dando como consecuencia la ruptura del tejido del vegetal liberando los compuestos volátiles (Figura 3) (Rodríguez *et al.*, 2012).

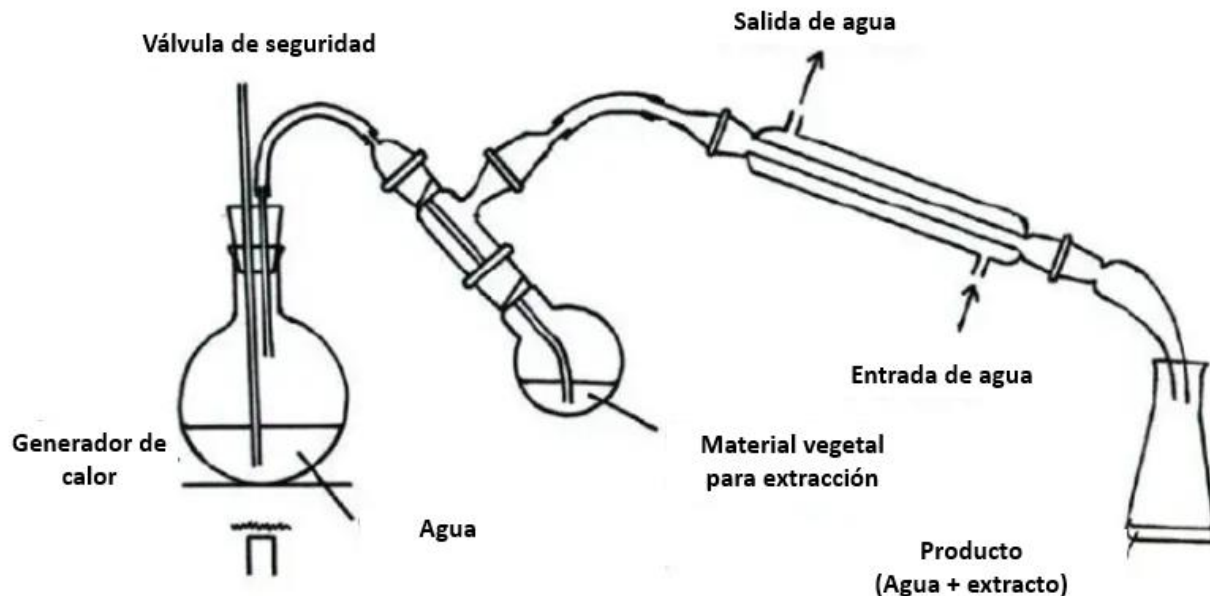


Figura 3. Equipo de hidrodestilación.

La vaporización selectiva del componente volátil se realiza a través de una inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose a este “vapor de arrastre”. Este vapor se condensará creando una fase inmiscible que cederá su calor a la mezcla para que se pueda vaporizar, obteniendo dos fases, una orgánica y una acuosa, comportándose de manera independiente ejerciendo su propia presión de vapor (Wankat, 1988; Sevillano *et al.*, 2019). Es posible utilizar un gas inerte para el arrastre en lugar de agua sin embargo el empleo de estos vapores, pueden generar problemas adicionales en la condensación y en la recuperación del destilado o gas. En muchos procesos de destilación por arrastre de vapor, el material vegetal se mezcla con agua y el sistema se lleva a ebullición, proceso comúnmente conocido como hidrodestilación. El vapor se condensa para separar el agua de la fracción de aceite (Perineau *et al.*, 1992).

Se ha evidenciado la ventaja de utilizar el método de arrastre por vapor por la pureza del destilado con relación al componente no volátil, a pesar de requerir una decantación para su separación de la fase acuosa o el hidrolato. Otra ventaja es el bajo costo que tiene el realizarlo, así como su sencillez para su obtención; sin embargo, el inconveniente es que se requiere de largos periodos de tiempo. El mismo autor señala que el manejo y el almacenamiento adecuado debe ser una prioridad dado que los aceites esenciales son altamente volátiles y sensibles a altas temperaturas (Peredo *et al.*, 2009).

El hidrolato, es un subproducto acuoso proveniente del proceso de hidrodestilación; se forma por la condensación del vapor que ha atravesado la materia vegetal durante el proceso de extracción descrito con anterioridad y contiene los mismos compuestos bioactivos que los extractos vegetales en menor proporción (Perdomo, 2015).

### **3.8 *Citrus sinensis* (Osbeck) (Rutaceae)**

Características taxonómicas (Schoch-CL, 2020):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Sapindales

Familia: Rutaceae

Género: *Citrus*

Especie: *C. sinensis* Osbeck 1865

#### **3.8.1 Características botánicas de *Citrus sinensis***

Son árboles medianos de hojas perennes, con ramas angulares cuando son jóvenes; las ramas están provistas de espinas solitarias situadas en las axilas de las hojas; las hojas se disponen en espiral alrededor del eje, tiene flores solitarias, en corimbos. Del naranjo brotan flores solitarias, en racimos terminales; tienen cáliz pequeño en forma de copa, tiene de 4 a 5 sépalos y está provisto de abundantes glándulas. El ovario es sub-globuloso, el estilo delgado o truncado, pasando progresivamente a un estilo de 24 mm de espesor similar al de la parte superior del ovario, contiene de 8 a 18 lóculos, con 4 a 8 óvulos por lóculo, en dos hileras paralelas. Por otro lado, el fruto está formado por segmentos que contienen las semillas colocadas en el ángulo anterior, el resto del espacio lleno de pelos vasculares pediculares, compuestos por grandes células de contenido acuoso. Los gajos se encuentran cubiertos de un endocarpio blanco, donde se encuentra una corteza con numerosas glándulas de esencia que se vuelven amarillas al madurar. Las semillas son ovadas, más o menos anguladas, con uno o más embriones blancos o verdes (Praloran, 1977).

### 3.8.2 Compuestos presentes en el pericarpio de *Citrus sinensis*

La naranja tiene diversas aplicaciones en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica debido a los compuestos presentes en el fruto entre los que se encuentran el limoneno, linalol y  $\alpha$ -pineno como sustancias a las que se le atribuyen propiedades bactericidas, fungicidas e insecticidas (De Santana, 2021). En la Tabla 2 se aprecian los compuestos presentes en el extracto obtenido del pericarpio de *C. sinensis* (Da Camara *et al.*, 2015).

**Tabla 2. Compuestos bioactivos presentes en *Citrus sinensis***

Compuesto	Porcentaje %
Limoneno	96.11
$\alpha$ -pineno	0.30
Mirceno	0.84
Linalol	0.48
Total	97.73

### 3.8.3 Distribución geográfica

Siendo de origen asiática, *C. sinensis* es una de las frutas más importantes de la República Mexicana, contando con más de 339 mil hectáreas y una producción total de 4,738,000 toneladas al año; su producción se encuentra concentrada principalmente en Veracruz y Tamaulipas, donde se genera el 68.2% de la oferta nacional, seguida de Puebla con el 4.6% y Yucatán con 2.9% (SIAP, 2020). Actualmente, se producen elevadas cantidades de residuos que de no ser manejados adecuadamente pueden generar contaminación en agua, suelo y aire, afectando los recursos naturales; técnicas como la del compostaje son poco usadas por ser un factor condicionante en el proceso de degradación por sus características fisicoquímicas y microbiológicas, acidificando el medio y retardando el proceso (Dávila & Sierra, 2018).

### 3.9 *Trichilia havanensis* (Jacq.) (Maliaceae)

La clasificación taxonómica de *T. havanensis* es la siguiente (Calderón & Germán, 1993):

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Superorden: Rosanae

Orden: Sapindales

Familia: Meliaceae

Género: *Trichilia*

Especie: *T. havanensis* Jacq. 1760

### **3.9.1 Características botánicas de *Trichilia havanensis***

Comúnmente llamado “ciruelillo” y o “limoncillo” en Oaxaca, “palo de cuchara” y/o “xopilcahuitla” en Puebla, es un arbusto o árbol perennifolio, que puede medir hasta 12 m de alto y el tronco hasta de 40 cm de diámetro, posee ramillas puberulentas glabras y hojas generalmente imparipinnadas; posee flores aromáticas, verdosas, amarillentas o de color crema; cáliz de 4 o 5 sépalos libres o unidos en la base, triangular-ovados, de alrededor de 1 mm, tanto de largo como de ancho. Se presentan de 3 a 4 semillas por fruto, que es ovoide-trígonas, de 5 a 8 mm de largo, testa coriácea, de vistoso color rojo o rojo-anaranjado, provistas de un arilodio pequeño, de color crema a blanco (Calderón & German, 1993; Germán, 2005).

### **3.9.2 Compuestos bioactivos presentes en *Trichilia havanensis***

Registros proporcionados por Chan *et al.* (1973) han señalado la presencia de limonoides como constituyentes en los extractos obtenidos de la planta; los primeros limonoides identificados fueron triacetato de havanensina, 3,7-di-O-acetilhavanensina, 1,7-di-O-acetilvahanensina y acetato de trichilenona, aislados de un extracto acetónico de frutos maduros; a partir de ellos se obtuvo havanensina, trichilenona, 1- dehidrohavanensina-3,7-diacetato, isotrichilenona, 7- dehidrotrichilenona, 1,2-epoxi-7- dehidrotrichilenona, 1,2- epoxicedrelona, 1,2-dihidrotrichilenol e isotrichilenol. De igual manera Passos *et al.* (2021) han señalado a los limonoides como constituyentes que tienen actividad insecticida; el trabajo de investigación consistió en identificar los compuestos bioactivos, encontrando 227 limonoides atribuidos a especies presentes en América, África y Asia, entre las que se encuentra *T. havanensis*, identificando componentes como 3,7-Diacetylhavanensin, 1,3-Diacetylhavanensin, 14,15-Deoxyhavanensin-1,7-diacetate e Hydroxybutenolide.

### **3.9.3 Distribución geográfica**

*T. havanensis* se encuentra distribuida principalmente en Centroamérica y el Caribe, en países como Guatemala, Belice, Costa Rica y Cuba, entre otros. En México se encuentra en los estados de Campeche, Colima, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit,

Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán (Germán, 2005).

## **4. Justificación**

El uso de plaguicidas de síntesis química, como método de regulación de plagas, trae como consecuencia daños a la salud derivados del consumo de alimentos contaminados y exposiciones al momento de su aplicación, teniendo un fuerte impacto perjudicial al medio ambiente y ha generado la resistencia de *T. urticae* a estos compuestos. El uso de extractos vegetales de *C. sinensis* y *T. havanensis* como método de regulación puede ser una alternativa para el manejo agroecológico de agroecosistemas al utilizar residuos orgánicos para su elaboración, lo anterior permite retomar métodos tradicionales de control, disminuir el riesgo por intoxicación y el impacto ambiental. Al utilizar un método de extracción sencillo se facilitará su aplicación utilizando residuos de otras especies vegetales provenientes del mismo Agroecosistema.

## **5. Objetivos**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar la mortalidad de huevos, larvas, adultos y la repelencia en larvas y adultos de los extractos de *C. sinensis* y *T. havanensis* en *T. urticae* en condiciones de laboratorio.

### **5.2 Objetivos específicos**

- a) Obtener y caracterizar fisicoquímicamente los extractos de *C. sinensis* y *T. havanensis*.
- b) Evaluar la mortalidad en huevos, larvas y adultos de los extractos vegetales de pericarpio de *C. sinensis* y semillas de *T. havanensis* sobre *T. urticae* en condiciones de laboratorio.
- c) Evaluar la actividad repelente de larvas y adultos de los extractos vegetales del pericarpio de *C. sinensis* y *T. havanensis* sobre *T. urticae* en condiciones de laboratorio.

## 6. Hipótesis

Al menos uno de los extractos de *C. sinensis* y *T. havanensis* tiene actividad biológica significativa ( $\alpha=0.05$ ) en la mortalidad y repelencia de *T. urticae* en ensayos de laboratorio.

## 7. Plan de trabajo

Las etapas del plan de trabajo se indican en la Figura 4.

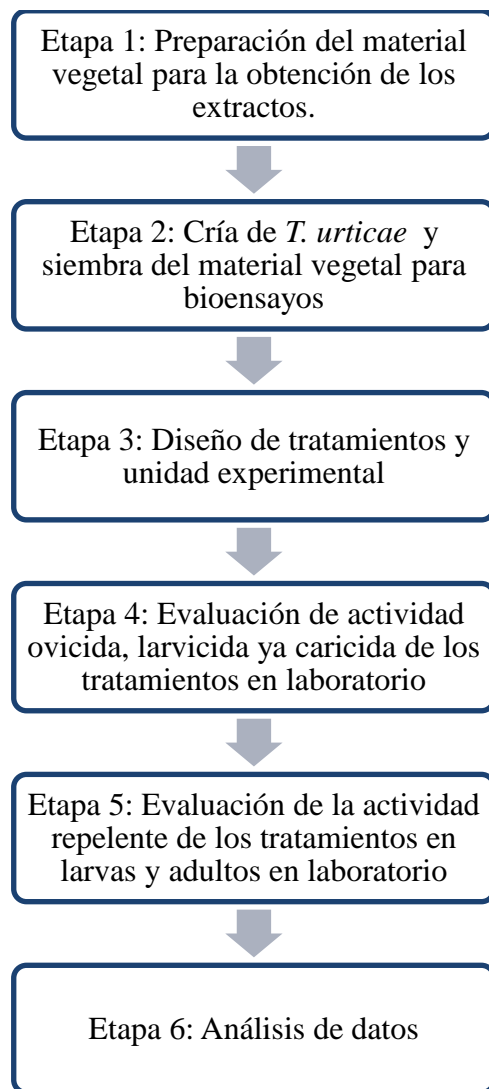


Figura 4. Etapas del plan de trabajo en el desarrollo de la investigación.

## 8. Materiales y métodos

### 8.1 Obtención de extractos vegetales

#### 8.1.1 Naranja (*Citrus sinensis*)

Los residuos de naranja fueron obtenidos de diferentes juguerías de la ciudad de Puebla, se caracterizó el material vegetal midiendo la índice madurez y posteriormente se separó el pericarpio que fue lavado y secado a temperatura ambiente para finalmente reducir su tamaño a 2 cm<sup>2</sup>. La extracción fue realizada utilizando el hidroddestilador marca GRAHAM DESCHEM modelo 2L HT. El material vegetal (200 g) se colocó en un matraz de destilación para someterse al vapor de agua como medio de arrastre. Se realizó la extracción con una temperatura de refrigerante de 8 a 9 °C durante 3 h. Con el uso del matraz de decantación se separó el extracto vegetal del hidrolato, se almacenaron en frascos ámbar a condiciones de -18 °C para el extracto vegetal y de 8°C para el hidrolato.

#### 8.1.2 Ciruelillo (*Trichilia havanensis*)

Frutos de *T. havanensis* fueron obtenidos en una colecta realizada en 2019 en Cuetzalan, Puebla. Los frutos se dejaron secar a la sombra a temperatura ambiente (18±5 °C) por 20 días, se separó la semilla del pericarpio y ésta fue molida con un molino Nixtamatic® NG-02 para grano y el producto fue pasado por un tamiz (Mont-Inox®) número 30. Se pesaron 100 g de semillas molidas y se colocaron en el matraz de destilación para someterse a vapor de agua con una temperatura de refrigerante de 9-10 °C durante 5 h. Con el uso del matraz de decantación se separó el extracto vegetal y el hidrolato, se almacenaron en frascos ámbar a condiciones de -18 °C para el extracto vegetal y de 8 °C para el hidrolato.

Se calculó el rendimiento usando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento del aceite esencial (\%)} = \frac{\text{Masa del aceite esencial (g)}}{\text{Masa de la planta (g)}} \times 100$$

Al obtener un bajo rendimiento en la extracción por hidroddestilación, se cambió el método por una maceración con etanol. Para la maceración se trabajó con 100 g de semilla molida y tamizada, ésta se colocó en un matraz Erlenmeyer con capacidad de 1 L y se le adicionaron 200 mL de etanol a 25 °C con agitación (60 rpm), realizando concentraciones cada 24 h por dos días (Figura 5).



Figura 5. Maceración etanólica de semilla de *Trichilia havanensis*.

Posteriormente se separó el etanol del material vegetal sedimentado y se le dio un proceso de purificación en el rotavapor Hei-VAP Core, a una temperatura de 80 °C para el baño maría a una velocidad de 80 rpm durante 90 minutos (Figura 6). El extracto vegetal se almacenó en condiciones de -18 °C. De igual forma se trabajó con la parte del fruto que contiene una mayor cantidad de compuestos volátiles, que en este caso fue la semilla (Camilo-Patiñón *et al.*, 2013).



Figura 6. Obtención de extracto puro de *Trichilia havanensis*.

## 8.2 Caracterización de extractos vegetales

### 8.2.1 Actividad antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante de cada extracto vegetal con la técnica de DPPH, midiendo la absorbancia de una muestra patrón preparada con el compuesto 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo como blanco y una solución del radical DPPH con cada extracto vegetal. Se calculó el porcentaje de inhibición con la siguiente fórmula (Jaramillo *et al.*, 2012):

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia del blanco} - \text{Absorbancia de extracto}}{\text{Absorbancia del blanco}} \text{----- (1)}$$

### 8.2.2 Composición química de los extractos vegetales

Los extractos vegetales fueron caracterizados mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a masas (GCMS, por sus siglas en inglés). Se usó el equipo Agilent GC-MS system (6850N/5975, Santa Clara, CA) el cual consiste en un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipado con una columna capilar HP-5MS (0.25- $\mu$ m cubierta delgada, 30 m longitud y 0.25 mm diámetro) y un detector selectivo de masas operando en el modo de impacto de la ionización del electrón (70 eV). El análisis de GC-MS fue llevado a cabo con las siguientes características: 1 mL/min de flujo del gas de transporte (helio), radio de flujo de 10:1, temperatura de inyección de 200 °C. la temperatura del horno se mantuvo a 40 °C por 3 min, después fue programada para incrementar de 40 °C a 150 °C a una tasa de 45 °C/min y 200 °C por 2 min. El escaneo del rango de masa fue m/z 43-350. Los componentes volátiles de los aceites esenciales fueron identificados para comparar los patrones del espectro de fragmentación de la masa con los compuestos análogos en la base de datos NIST en la literatura.

## 8.3 Cría de *Tetranychus urticae* y siembra del material vegetal para bioensayos

El ácaro fue obtenido de un cultivo de maracuyá *Passiflora edulis* Sims (Passifloraceae) sin aplicación de plaguicidas, ubicado en Tlapanalá, Puebla. Las hojas infestadas fueron llevadas al Laboratorio de Manejo Agroecológico de Plagas del Centro de Agroecología de Instituto de Ciencias de la BUAP, donde se separaron los organismos que contaron con las características morfológicas para *T. urticae* (Ferragut & Santoja, 1989). Los organismos separados fueron colocados en plantas de frijol *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae) sanas y limpias, puestas en contenedores de acrílico transparente cubiertos con tela tricot y mantenidas en condiciones de 26

$\pm 1$  °C y humedad relativa del  $60 \pm 5\%$ , donde se estableció la cría y se obtuvieron los individuos para los bioensayos de laboratorio (Figura 7, 8 y 9).



Figura 7. Cría de *Tetranychus urticae*.



Figura 8. Planta de frijol para cría de *T. urticae*.



Figura 9. Cría de *Tetranychus urticae* en hojas de frijol.

#### **8.4 Diseño de tratamientos y unidad experimental**

Se evaluó el efecto de cada extracto vegetal a concentraciones de 0 (testigo), 500, 1000 y 1500 mg.L<sup>-1</sup>, así como los hidrolatos (sin diluir), sobre la viabilidad de huevos y la supervivencia y repelencia en larvas neonatas y hembras adultas de *T. urticae*. La unidad experimental fue en un disco foliar de frijol (*P. vulgaris*) de 1.5 cm de diámetro con un determinado número de huevos, larvas y adultos de *T. urticae*. El disco se colocó en una caja de Petri de 9 cm de diámetro con el fondo cubierto con dos capas de papel filtro húmedos a saturación. La turgencia del disco foliar se mantuvo al colocar la placa Petri dentro de una caja cilíndrica de polipropileno de 5 cm de altura por 12 cm de diámetro. Se utilizó un trozo de material absorbente para conectarlo a la placa Petri con un clip. Se mantuvo el flujo de agua entre el papel filtro de la placa Petri y el depósito de agua de la caja exterior (Figura 10). Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones en cada ensayo y el diseño experimental fue completamente al azar (Figura 11).

#### **8.5 Evaluación de la viabilidad de huevos y la mortalidad en larvas y adultos de los tratamientos en laboratorio.**

##### **8.5.1 Preparación de soluciones**

Para la evaluación de la actividad ovicida, larvicida, acaricida y repelente de los extractos vegetales, se prepararon soluciones en concentraciones de 500, 1000 y 1500 mg.L<sup>-1</sup>; por su parte los hidrolatos fueron utilizados sin diluir. Se prepararon 25 mL de cada tratamiento y a cada uno se les adicionó 0.025 mL de surfatol, quienes se agitaron en un shaker por un tiempo de 10 minutos para tener una solución homogénea. Se trabajaron con dos testigos que fueron agua

destilada y agua destilada mezclada con surfatol para determinar si existe una diferencia significativa en la mortandad derivada del surfatol (Figura 12 y 13).



Figura 10. Unidad experimental usada en los bioensayos.

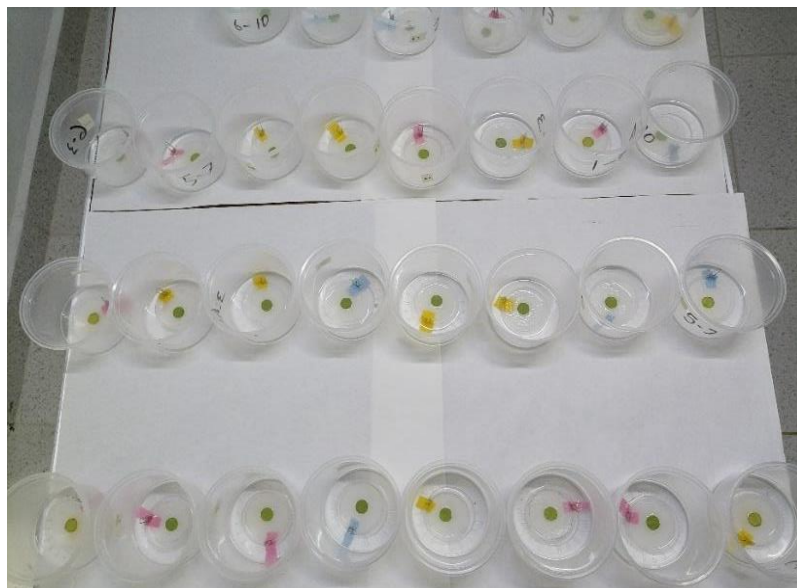


Figura 11. Unidades experimentales en cámara de cría.



Figura 12. Tratamientos de *Trichilia havanensis* en sus diferentes concentraciones.



Figura 13. Tratamientos de *Csinensis* en sus diferentes concentraciones.

### 8.5.2 Bioensayos en huevos

Se colocaron dos hembras y tres machos de *T. urticae* por disco de hoja y se permitió la oviposición durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, se retiraron los adultos y fueron colocados 10 huevos por unidad experimental, posteriormente fueron tratados con los extractos vegetales a las concentraciones establecidas y los hidrolatos sin diluir. Para la aplicación de éstos se utilizó un aspersor manual con capacidad de 25 mL para el rociado de los discos foliares de manera homogénea. Una vez tratados los discos, se dejaron secar al aire libre durante 15 minutos y se colocaron en cuarto de cría a una temperatura de  $26 \pm 1$  °C, humedad relativa del  $60 \pm 5\%$  y

fotoperiodo de 12:12 luz y oscuridad. La eclosión de los huevos se comprobó 6 días después de la aplicación de los tratamientos. Se registró el número de huevos muertos y eclosionados por observación directa con un microscopio estereoscópico (Rodríguez-Cabrera *et al.*, 2022).

### **8.5.3 Bioensayos en larvas neonatas**

Los bioensayos se realizaron sobre cohortes con larvas menores a 12 h de edad. Para esto, se recogieron 120 hembras y otros tantos machos de la cría masiva, se colocaron sobre hojas de frijol que previamente fueron introducidas en placas Petri de 9 cm de diámetro con 2-3 discos de papel filtro húmedo. Se permitió que las hembras pongan huevos durante 24 h, tiempo tras el cual se retiraron de las hojas. Al cabo de 5 días los huevos eclosionaron, obteniendo larvas de edad homogénea (< 12 h). A cada placa Petri se aplicó el extracto vegetal a cada concentración establecida y los hidrolatos sin diluir en los tratamientos y agua destilada para el caso de la placa testigo, con ayuda de un aspersor manual a una distancia de 10 cm, se dejaron secar y con ayuda de un pincel de pelo de camello se distribuyeron las larvas a razón de 10 larvas por disco. Las unidades experimentales se colocaron al azar en la cámara de cría en condiciones mencionadas con anterioridad; se contabilizaron los individuos muertos en el momento que se observaron las primeras protoninfas (4 días), se consideraron como muertas aquellas larvas que no respondieron con movimiento cuando se les tocó en tres ocasiones con el pincel. Los individuos que escaparon de los discos foliares no se consideraron para el análisis de datos. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones.

### **8.5.4 Bioensayos en adultos**

Al disco foliar de cada unidad experimental conteniendo 10 hembras adultas (Figura 14) se le aplicó el tratamiento respectivo con ayuda de un aspersor manual y se dejó secar en condiciones ambientales durante 15 minutos. Las unidades experimentales se colocaron al azar en la cámara de cría donde permanecieron en las condiciones ya indicadas de temperatura, humedad relativa y fotoperiodo. Se contabilizaron los individuos muertos (aquellos que no respondieron al toque del pincel) a las 24 h. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones.



Figura 14. Disco foliar con hembras de *T. urticae*.

### **8.6 Evaluación de la actividad repelente de extractos vegetales en larvas neonatas y adultos en condiciones de laboratorio.**

La unidad experimental consistió en un disco foliar seccionado en dos partes iguales. Una sección fue sumergida por 10 segundos en una solución de 25 mL de agua destilada y 0.025 mL de surfatol, mientras que la otra sección fue sumergida en la solución con el tratamiento respectivo (extractos vegetales a las distintas concentraciones y hidrolatos sin diluir) por 10 segundos y ambas secciones se dejaron secar en condiciones ambientales por 15 segundos. Ambas secciones se unieron para conformar de nuevo un disco foliar (Figura 15).

#### **8.6.1 Bioensayos en larvas neonatas**

Los bioensayos se realizaron sobre cohortes de larvas menores a 12 h de edad. Se recogieron 120 hembras y otros tantos machos de la cría masiva, se colocaron sobre hojas de frijol que previamente fueron introducidas en placas Petri de 9 mm de diámetro con 2-3 discos de papel filtro húmedo. Se permitió que las hembras pusieran huevos durante 24 h y enseguida fueron retiradas de las hojas. Al cabo de 5 días los huevos eclosionaron obteniendo larvas de edad

homogénea (< 12 h). Con ayuda de un pincel de pelo de camello se colocaron 10 larvas neonatas en cada disco foliar de las unidades experimentales de las 10 repeticiones de cada tratamiento y se mantuvieron en la cámara de cría con las condiciones ya descritas. A las 24 h se contabilizó el número de individuos en cada sección del disco foliar y se calculó el porcentaje de repelencia con la siguiente formula (Aissaoui *et al.*, 2020):

$$\% \text{ Repelencia} = \frac{(C-T)}{(C+T)} \times 100 \text{ ----- (2)}$$

Dónde C es en número de individuos en la sección testigo o control y T el número de individuos en la sección tratada con la solución del extracto a la concentración respectiva.



Figura 15. Unidad experimental utilizada en las evaluaciones de repelencia.

### 8.6.2 Bioensayos en hembras adultas

La unidad experimental fue la descrita con anterioridad salvo que se colocaron 10 hembras adultas en el disco foliar conformado por las secciones con el tratamiento testigo y el extracto. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones en cada ensayo, y el diseño experimental fue completamente al azar. Se contabilizaron los individuos en ambas secciones de la hoja a las 24 h y se calculó el porcentaje de repelencia con la expresión indicada antes.

### **8.7 Análisis de datos**

Los datos de mortalidad y porcentaje de repelencia se sometieron a pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk y Ji Cuadrada) y se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas por el método de Bartlett. En ningún caso se cumplió con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Con las transformaciones realizadas (raíz cuadrada y Arco seno de la raíz cuadrada) no se logró obtener ajuste significativo a la normalidad, por lo que los datos se analizaron por la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida de pruebas de Mann y Whitney para comparar pares de medianas y el criterio de traslape en el gráfico de cajas para la comparación múltiple de las medianas. Los cálculos y análisis de los datos se realizaron con el paquete estadístico Statgraphics Centurion version XVI.I. (StatPoint Technologies, Inc., 2009). Todas las pruebas estadísticas se realizaron considerando un nivel de confianza del 95% ( $\alpha = 0.05$ ).

## **9. Resultados y discusión**

### **9.1 Extracción y preparación de las muestras de *Citrus sinensis* y *Trichilia havanensis***

#### **9.1.1 Caracterización de material vegetal**

##### **Naranja dulce (*Citrus sinensis*)**

Se obtuvo un valor promedio de 5.8 mL de NaOH 0.1N gastados y un valor de grados Brix de 11.2. El índice de madurez de la naranja fue de 15.13 y un porcentaje de humedad de 90.2%, resultados que cumplen con los rangos establecidos por la legislación mexicana bajo la norma NMX-027.

#### **9.1.2 Obtención de extractos**

Los resultados del proceso de extracción de los materiales de *C. sinensis* y *T. havanensis* se muestran en la Tabla 3, donde se puede apreciar que el material vegetal con mayor rendimiento de extracto fue el pericarpio de la naranja, con un valor de 0.6%, concordando con los resultados obtenidos por Velázquez (2019,), quien también trabajó con tiempo y temperatura del vapor de arrastre entre los 90 y 95 °C. Por otro lado, Obregón (2018) obtuvo que el tamaño del pericarpio influye en el rendimiento de los extractos vegetales por el método de arrastre de vapor. Los resultados obtenidos para las semillas de naranja muestran un rendimiento muy bajo.

**Tabla 3. Resultados del proceso de extracción por arrastre de vapor de los materiales de *Citrus sinensis* y *Trichilia havanensis***

Material vegetal	<i>C. sinensis</i>				<i>T. havanensis</i>			
	Pericarpio		Semillas		Pericarpio		Semillas	
Parte	A	B	Entera	Molida	Entera	Molida	Entera	Molida
Corrida								
Rendimiento (%)	0.55	0.6	0.104	0.085	0.008	0.005	0.016	0.027

No se encontraron referencias de obtención de extractos de las semillas de *C. sinensis* por el método utilizado en este trabajo. Las referencias encontradas se refieren a la obtención del extracto de la semilla con técnicas de extracción con solventes y por maceración, como los trabajos realizados por Espinoza *et al.* (2021) y Escalante *et al.* (2012). Sin embargo, es importante señalar que la mayor cantidad de estos compuestos aromáticos se encuentran presentes en el pericarpio del fruto.

Para el caso de *T. havanensis* se obtuvo un rendimiento de extracto promedio de 0.065% para el pericarpio y de 0.027% para las semillas. No se encontraron reportes de la extracción por arrastre de vapor para esta planta, así mismo se ha reportado de la obtención de extractos vegetales con métodos alternativos como el Soxhlet con un mayor rendimiento (Rodríguez-Cabrera *et al.*, 2022; De la Torre-Anzúres *et al.*, 2017) usando la semilla. Es importante señalar que el rendimiento y la calidad de los extractos vegetales pueden variar ya sea por la madurez de la planta o del fruto (Huarcaya, 2021) y por factores ambientales en el proceso de secado (Toro & Piedra, 2019). También por la variedad de la planta, condiciones de cultivo, época de recolección, parte cosechada de la planta, manejo del material vegetal y los métodos de extracción, entre otros (SENA, 2004).

Por otro lado, la cantidad de hidrolato reservado fue de 500 mL, tanto para el pericarpio como de la semilla, Aćimović *et al.* (2020) reporta que los hidrolatos, cuentan con compuestos aromáticos solubles en agua, así como una fracción muy pequeña de los compuestos presentes en el extracto vegetal, lo que provoca similitud en el aroma de ambos productos.

El extracto obtenido de la maceración alcohólica presentó un rendimiento del 10%, contrastando con el menor rendimiento obtenido por el método de arrastre de vapor. Escobar (2021), comparó dos métodos de obtención de extractos de la corteza de *Quercus crassiflora* Humb. & Bonpl. (Fagaceae) usando el método de maceración etanólica y mediante el uso de ultrasonido, siendo la de mayor rendimiento la maceración etanólica. Por otra parte, Luzuriaga *et al.* (2019) evaluó la obtención de extractos vegetales de *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) por métodos de maceración alcohólica y la destilación por arrastre de vapor, siendo la maceración la que obtuvo un mayor rendimiento. En el caso de semillas, Barriga (2021) concluyó que la maceración etanólica presenta un mayor rendimiento en la obtención del extracto vegetal de uva Borgoña negra *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) en comparación con el método por arrastre de vapor.

## **9.2 Caracterización de los extractos vegetales**

### **9.2.1 Actividad antioxidante**

Los resultados del porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto de naranja fue de un 8%. Estos resultados concuerdan con los reportados por Meza-Ipanaqué (2017) donde se obtuvo un porcentaje de inhibición del 4.5%. Este bajo porcentaje se atribuye a que los limonoides presentes en el extracto tienen una actividad antioxidante muy baja, como lo reportado en el trabajo de Yu *et al.* (2005) donde comparan la actividad antioxidante de limonoides y flavonoides presentes en el extracto vegetal de *C. sinensis*, siendo los limonoides lo que tuvieron una actividad antioxidante menor.

Para el extracto de *T. havanensis* se obtuvo un porcentaje de inhibición de 45%. Hasta ahora no se tienen resultados reportados de *T. havanensis* sobre su actividad antioxidante, sin embargo, para otras especies de *Trichilia* como el caso de la corteza y el tallo de *Trichilia roka* Vahl. (Meliaceae) se obtuvo un porcentaje de inhibición del radical DPPH en un rango de 30 – 40% (Nana *et al.*, 2013), el cual es similar al reportado por *T. havanensis* en este trabajo.

### **9.2.2 Densidad**

Para el extracto de naranja (*C. sinensis*) se obtuvo una densidad de 0.87 g/mL, correspondiente con los datos reportados por Blas-Espinosa & Fernández-Venturo (2021), con valores de 0.86 g/mL, así como por Cerna-Mejía & Torres-Orzelís (2020) quienes reportaron una densidad de 0.84 g/mL.

Para el caso del ciruelillo (*T. havanensis*) se obtuvo una densidad de 1.02 g/mL. No se encontraron reportes de la densidad para este extracto vegetal.

### 9.2.3 Composición

A partir de los datos obtenidos con el uso del equipo de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, así como los picos del espectro que arroja la cromatografía de gases (Figura 20), se determinó la composición del extracto de *C. sinensis* (Tabla 4) donde se puede observar que uno de los compuestos mayoritarios es el limoneno, compuesto al que se le han atribuidos propiedades antibacterianas (Luna-Guevara *et al.*, 2021) y acaricidas (Abdelgaleil *et al.*, 2019). Los datos obtenidos concuerdan con los resultados reportados por Barros-Gomes *et al.* (2021) reportando al limonene como compuesto bioactivo mayoritario presente en el extracto de la cáscara de naranja; Asimismo, Conde-Hernández *et al.* (2021) también reportaron al limoneno y beta-mirceno como compuestos bioactivos presentes en mayor proporción en el extracto vegetal. También su otro compuesto mayoritario: el escualeno, ha presentado toxicidad para el ácaro *T. urticae*, como repelencia en adultos y toxicidad en ninfas de la mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae) (Wagan *et al.*, 2018).

**Tabla 4. Compuestos presentes en el extracto de *C. sinensis*.**

Compuesto	Porcentaje presente en extracto (%)
Limoneno	75.83
Squaleno	16.76
7-hydroxy-5,6-dimethoxychromen-2-one; 2h-1-benzopyran-2-one	1.83
B-mirceno	1.29
Ácido n-hexadecanoico	1.09
Linalool	0.61
(z)-9- ácido octenaico 3-(octadecyloxy)propyl ester	0.6
1r-alfa-pineno	0.4
Monolinolenin	0.35
Oxido de caryiphileno	0.33
Eremophileno	0.32
1h-cyclopeazulen-7-ol	0.29

I-propil-tetradecanoate	0.16
Isopulegol	0.12
<b>Total</b>	<b>99.98</b>

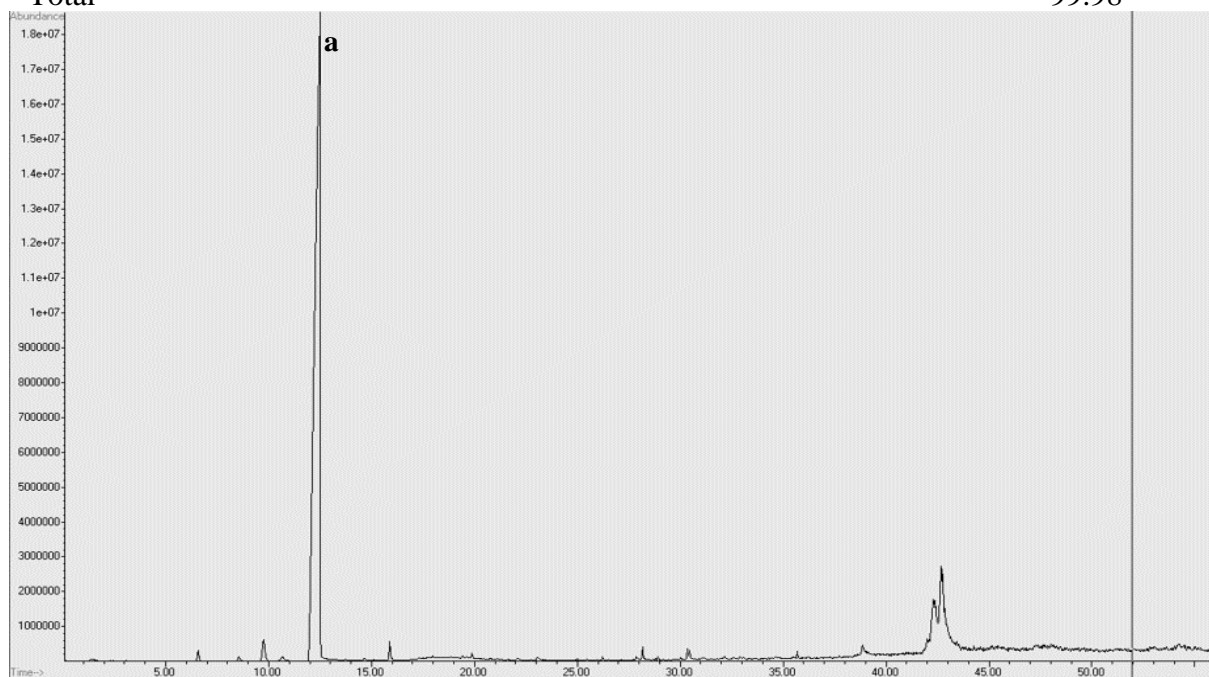


Figura 16. Cromatograma obtenido del análisis por CG/EM de la fracción del extracto de *C. sinensis*. Los picos representan los metabolitos presentes en la muestra, su altura indica la cantidad del compuesto presente en la muestra por ejemplo el pico señalado con la letra “a” hace referencia al limoneno.

En la Tabla 5 se muestran los resultados de la caracterización del extracto de *T. havanensis* y en la Figura 21 se presenta el cromatograma obtenido por CG/EM para este extracto. Su compuesto mayoritario, el tymol a 0.2 y 0.01% ( $\text{mL L}^{-1}$  v/v) ocasiono más del 40% de la mortalidad de ninfas y los adultos de *T. urticae* (Herrera-Gorocica et al., 2023). El otro compuesto mayoritario, el ácido linolico a 1 mg/mL ha causado 30.4. % de mortalidad del ácaro *T. urticae* (Lee et al., 2022). Otros compuestos presentes pertenecen a una compleja mezcla de esteres, principalmente acetatos, los cuales son precursores para la formación de los limonoides de la clase azadirona, cedrelona, havanensina, trichilina y vilasinina, que han sido reportados en plantas pertenecientes a la familia de las meliáceas y constituyentes del extracto vegetal de *T. havanensis* (Tang & Luo, 2011). La formación de estos limonoides se ve condicionada al contacto con la luz, la temperatura, además el medio en el que se encuentran al realizar la caracterización como lo reportan los mismos autores, quienes mencionan que la formación de la clase havanensina se

realiza bajo condiciones ácidas. Por otro lado, la CG/EM constituye una herramienta para separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semi-volátiles de mezclas complejas y térmicamente estables a temperaturas de hasta 350-400°C, mientras que los autores reportan temperaturas máximas de 60°C en sus caracterizaciones. Los recursos bibliográficos reportan las técnicas utilizadas para su caracterización más no el nombre de los metabolitos secundarios mayoritarios en sus muestras analizadas.

Así mismo se han encontrado reportes de algunas otras especies pertenecientes al género *Trichilia*, como *Trichilia emetica* Vahl. (Meliaceae) cuyos constituyentes mayoritarios son esterres y compuestos aromáticos como ácido pentanoico y el p-xileno (Perumal *et al.*, 2020). En el caso de *Trichilia gigliana* L. (Meliaceae), se reportan diversos terpenos y esterres como el ácido hexadecanoico etil ester o el octadecano, 2-metil (Lucie *et al.*, 2016), que también se encuentran presentes en el extracto de *T. havanensis* utilizado en este trabajo de investigación.

**Tabla 5. Compuestos presentes en el extracto de *Trichilia havanensis*.**

<b>Compuesto</b>	<b>Porcentaje presente en extracto (%)</b>
Thymol	13.97
Ácido linoleico	11.99
(-) spathulenol	11.67
B-cubenene	8.11
Ácido n-hexadecanoico	5.48
Ácido 9-hexadesenoico	3.54
Aromadendreno	3.45
Ylangeno	3.38
Gamma-muuroleno	2.9
Gamma-cadineno	2.62
Ácido acético	2.33
Caryophylleno	2.33
Aromadendreno oxide (2)	2.24
Cubenol	1.7
Tricyclo[5.2.2.0(1,6)]undecan-3-ol,2-methylene-6,8,8-trimethyl-	1.55
Beta-elemene	1.54
Alfa-gurjunene	1.54
Oxido caryophyllene	1.52

Alfa-cubene	1.51
B-eudesmeno	1.09
Ácido oleico	0.97
Copaeno	0.82
Aristoleno hepoxido	0.77
Alfa-caryophyllene	0.76
Isopropyl myrstato	0.67
Linalool	0.58
O-cymol	0.56
spiro[tricyclo[4.4.0.0(5,9)]decane-10,2'-oxirane], 1-methyl-4-isopropyl-7,8-dihydroxy-, (8s)-	0.49
trans-9,12-octadecadienoic acid methyl ester	0.49
1h-pyrrole, 1-methyl	0.48
isoaromadendrene hepoxide	0.48
gamma-elemene	0.45
allo-aroma-dendreno	0.4
Drimenol	0.39
ledeneoxide (2)	0.39
aromadendre oxide	0.34
metil 2,5 -octadecadiynoate	0.31
calarene hepoxide	0.29
beta-bourbonene	0.27
Guaiene	0.25
Cyclosatirene	0.21
alfa-terpenol	0.18
2-acetoxy-10-(2-hexylcyclopropyl)capric acid methyl ester	0.13
h-terpineol	0.1
17,.beta.-destradiol	0.08
estra-1,3,5(10)-trien-17-ol, (17.beta.)-	0.07
(2 $\alpha$ ,5 $\beta$ )-5-hexadecyloxy-2-pentadecyl-1,3-dioxane	0.07
1-monolein	0.06
ethyl linoleate	0.05
1,2-dipalmitoyl-sn-glycerol	0.05
(z)-9-octadecenoic acid 3-(octadecyloxy)propyl ester	0.05
Isoborneol	0.04
(1ar)-8 $\beta$ -acetyloxy-1,1 $\alpha\alpha$ ,1b $\beta$ ,1c $\alpha$ ,2a,3,3a,6 $\alpha\alpha$ ,6b,7,8,8a-dodecahydro-	0.04

3 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,8 $\alpha$ -trihydroxy-2<sup>a</sup>

1-heptatriacotanol

0.03

Total

95.78

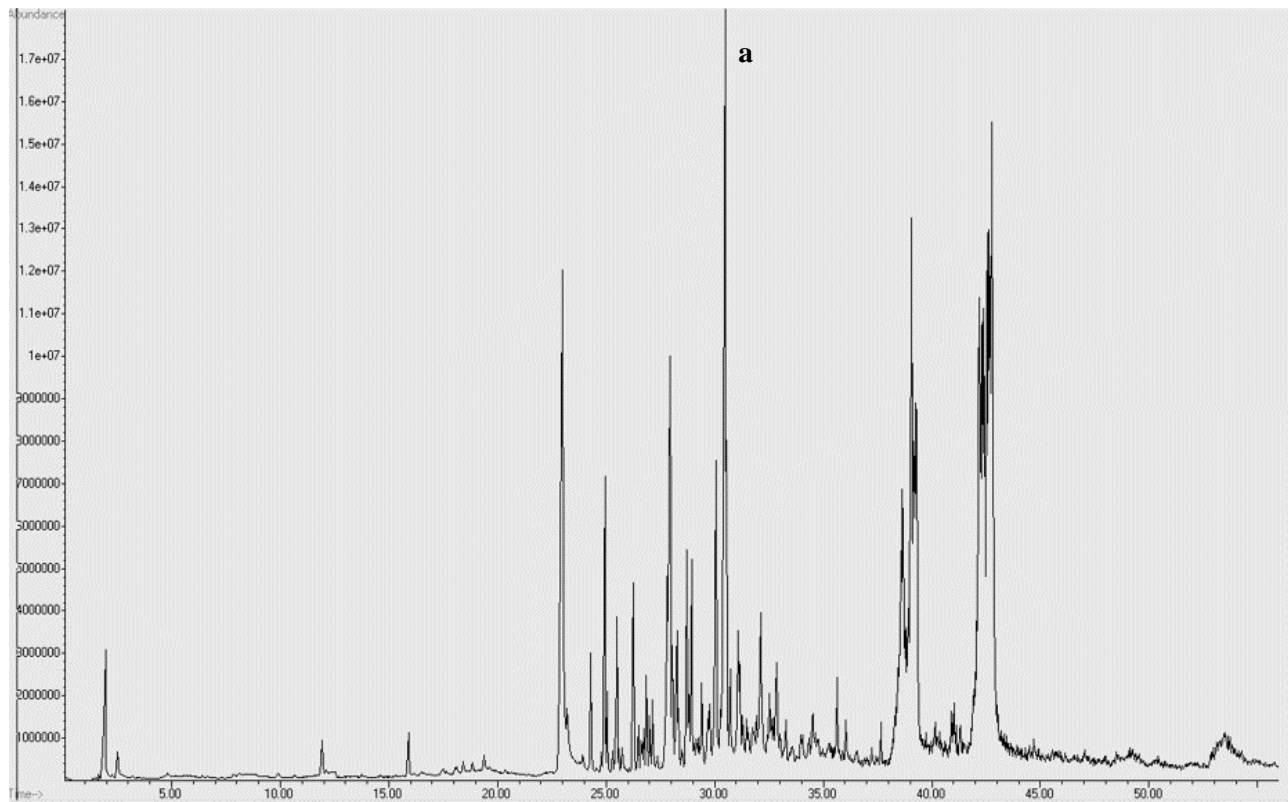


Figura 17. Cromatograma obtenido del análisis por CG/EM de la fracción del extracto de *T. havanensis*. Los picos representan los metabolitos presentes en la muestra, su altura indica la cantidad del compuesto presente en la muestra por ejemplo el pico señalado con la letra “a” hace referencia al thymol.

### 9.3 Evaluación de mortalidad

En todos los ensayos, el porcentaje de mortalidad promedio de los tratamientos testigo, consistentes en agua destilada (A) y agua destilada mezclada con surfatol (A+S), fue menor al 5% y no se observó diferencia significativa entre las medianas de mortalidad del testigo A y el testigo A+S (Mann y Whitney,  $p > 0.05$ ). Por lo tanto, los análisis se realizaron con los datos originales de mortalidad y las repeticiones de los dos testigos se promediaron para considerar un solo testigo.

### 9.3.1 Actividad ovicida

El extracto de las semillas de *T. havanensis* a la concentración de 1500 mg.L<sup>-1</sup> fue el tratamiento que presentó la mayor actividad ovicida en *T. urticae*, con mediana de mortalidad de huevos de 45.0%, que resultó significativamente superior a la mortalidad de los demás tratamientos y del testigo (Tabla 6).

**Tabla 6. Medianas de mortalidad (M) de huevos de *Tetranychus urticae* tratados con extractos de *Citrus sinensis* y *Trichilia havanensis*.**

Tratamiento	<i>C. sinensis</i> M [CI, CS]* (%)	<i>T. havanensis</i> M [CI, CS] (%)
Testigo	00.0 [00.0, 07.2] a**	00.0 [00.0, 07.2] a
Hidrolato	16.0 [06.7, 18.7] bc	08.8 [00.0, 26.7] ab
500 mg.L <sup>-1</sup>	11.2 [00.0, 14.3] b	22.0 [18.2, 31.2] b
1000 mg.L <sup>-1</sup>	14.4 [08.3, 25.0] bc	18.9 [11.8, 24.0] b
1500 mg.L <sup>-1</sup>	17.5 [11.1, 26.7] c	45.0 [37.5, 55.6] c

\* CI= Cuartil inferior, CS= Cuartil superior.

\*\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medianas de tratamientos (p<0.05).

Rodríguez-Cabrera *et al.* (2022) reportaron efecto ovicida en *T. urticae* de los extractos hexánico y etanólico de *T. havanensis*, comparando su efecto con otros extractos vegetales, siendo el más efectivo el extracto etanólico, como fue en el presente trabajo de investigación. El efecto ovicida puede atribuirse a los compuestos bioactivos mayoritarios obtenidos del extracto vegetal como el thymol, ácido linoleico y (-) Spathulenol a los que se le han atribuido propiedades benéficas para la salud humana y como compuesto acaricida y bactericida (Escobar *et al.*, 2020). Maldonado-Michel *et al.* (2022) evaluaron el extracto de las semillas de *Swietenia humilis* Zucc. (Meliaceae), usaron etil acetato como solvente para obtener el extracto vegetal y en condiciones de laboratorio tuvo efectividad sobre las hembras y en la viabilidad de los huevos de *T. urticae* a concentraciones del 1%.

Los extractos y el hidrolato del pericarpio de *C. sinensis* ocasionaron mortalidad de huevos entre 11.2 y 17.5% con diferencia significativa respecto a la mortalidad del tratamiento testigo. Los tratamientos que ocasionaron mayor mortalidad fueron los extractos a 1000, 1500 mg.L<sup>-1</sup> y el

hidrolato, con medianas de mortalidad de 14.4, 17.5 y 16.0%, respectivamente, sin observarse diferencia estadísticamente significativa entre ellas. No se encontró información en la literatura científica sobre el efecto ovicida de estos extractos en *T. urticae* o en otras especies de ácaros. Sin embargo, se ha probado su efecto ovicida en otros artrópodos como *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) y *Dermestes maculatus* Deg (Coleoptera: Dermestidae) en concentraciones menores al 1% (Don-Pedro, 1996).

### 9.3.2 Actividad larvicida

En la Tabla 7 se muestran las medianas de mortalidad ocasionada por los tratamientos de los extractos de las dos especies vegetales y el resultado de la comparación de las medianas, donde se aprecia que la mayor actividad larvicida fue ocasionada por las concentraciones de 1000 y 1500 mg.L<sup>-1</sup> del extracto de *C. sinensis*, con mortalidad del 40%.

Existen pocos estudios en larvas de *T. urticae* para contrastar los resultados obtenidos en el presente trabajo, sin embargo, el limoneno, presente en el extracto vegetal de *C. sinensis*, ha demostrado ser efectivo en el estudio realizado por Golec *et al.* (2020) donde hubo una mortalidad mayor al 50% usando limoneno al 80%. Así mismo Sun *et al.* (2022) señalan que el limoneno que se encuentra presente en el extracto de *Plectranthus tomentosus* tiene un efecto larvicida del 80% en concentraciones de 50 mg/mL a las 48 h de su aplicación en larvas de *Tetranychus kanzawai* (Acari: Tetranychidae).

**Tabla 7. Medianas de mortalidad (M) de larvas neonatas de *Tetranychus urticae* tratados con extractos de *Citrus sinensis* y *Trichilia havanensis*.**

Tratamiento	<i>C. sinensis</i> M [CI, CS]* (%)	<i>T. havanensis</i> M [CI, CS] (%)
Testigo	00.0 [00.0, 05.0] a**	00.0 [00.0, 05.0] a
Hidrolato	30.0 [20.0, 30.0] b	20.0 [10.0, 20.0] c
500 mg.L <sup>-1</sup>	20.0 [20.0, 30.0] b	15.0 [10.0, 20.0] b
1000 mg.L <sup>-1</sup>	40.0 [30.0, 50.0] c	15.0 [10.0, 20.0] b
1500 mg.L <sup>-1</sup>	40.0 [30.0, 40.0] c	20.0 [10.0, 30.0] c

\* CI= Cuartil inferior, CS= Cuartil superior.

\*\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medianas de tratamientos ( $p < 0.05$ ).

En cuanto a *T. havanensis*, la mayor actividad larvicida se obtuvo con el hidrolato y la concentración de 1500 mg.L<sup>-1</sup>, con mediana de mortalidad del 20% en ambos tratamientos. No se han encontrado trabajos en los que se evalúe el efecto de los extractos de *T. havanensis* en larvas de *T. urticae*, pero sí con plantas pertenecientes a la familia de las meliáceas como el trabajo realizado por Ashrafju *et al.* (2014), donde se utilizó un extracto etanólico de *Melia azedarach* L. (Meliaceae) que, si bien no tuvo un efecto letal en la larva, hubo una incidencia en el desarrollo del ácaro a una concentración de 4 mg.mL<sup>-1</sup> debido posiblemente a los limonoides presentes en el extracto. Por otro lado, Augustin *et al.* (2015) uso un extracto acuoso de *A. indica* en cultivos de tomate, monitoreando el comportamiento de la población de larvas de *T. urticae* durante 8 semanas, donde se observó que el extracto de *A. indica* tuvo un efecto letal del 30% en la población de larvas en concentración de 8 g.L<sup>-1</sup>, teniendo el mismo efecto que el acaricida químico que también fue incluido en el ensayo.

### 9.3.3 Actividad en adultos

La mayor actividad en adultos de *T. urticae* fue ocasionada por las concentraciones de 1000 y 1500 mg.L<sup>-1</sup> del extracto de *C. sinensis* con medianas de mortalidad de 45 y 50 %, respectivamente (Tabla 8). En un estudio similar, Hassan *et al.* (2021) evaluaron la mortalidad de adultos de *T. urticae* en concentraciones de 1250, 2500, 5000 y 10,000 mg.L<sup>-1</sup> de un extracto de *C. sinensis*, siendo el tratamiento más eficaz la concentración a 10,000 mg.L<sup>-1</sup>.

**Tabla 8. Medianas de mortalidad (M) de hembras adultas de *Tetranychus urticae* tratados con extractos de *Citrus sinensis* y *Trichilia havanensis*.**

Tratamiento	<i>C. sinensis</i> M [CI, CS]* (%)	<i>T. havanensis</i> M [CI, CS] (%)
Testigo	00.0 [00.0, 10.0] a**	00.0 [00.0, 10.0] a
Hidrolato	10.0 [00.0, 20.0] a	05.0 [00.0, 10.0] a
500 mg.L <sup>-1</sup>	20.0 [10.0, 30.0] b	10.0 [0.0, 10.0] a
1000 mg.L <sup>-1</sup>	45.0 [40.0, 60.0] c	30.0 [30.0, 40.0] b

1500 mg.L <sup>-1</sup>	50.0 [50.0, 50.0] c	35.0 [30.0, 40.0] b
-------------------------	---------------------	---------------------

\* CI= Cuartil inferior, CS= Cuartil superior.

\*\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medianas de tratamientos (p<0.05).

En otro trabajo, Asmaa & Amal (2021) evaluaron la letalidad de los extractos de *C. sinensis* y *C. aurantium* en adultos de *T. urticae* en diversas concentraciones; los resultados obtenidos demuestran la actividad acaricida del extracto de *C. sinensis* en una concentración del 8%. Esta actividad acaricida se atribuye a los compuestos bioactivos mayoritarios presentes en el extracto vegetal como el limoneno. Born *et al.* (2018) evaluaron la actividad acaricida de diversos compuestos, siendo el limoneno uno de los compuestos bioactivos que tuvieron una mayor influencia en la mortandad de *T. urticae*.

La mayor actividad del extracto de las semillas de *T. havanensis* se obtuvo a las concentraciones de 1000 y 1500 mg.L<sup>-1</sup> con medianas de 30 y 35% de mortalidad, respectivamente, sin observar diferencia significativa entre ellas. Chiasson *et al.* (2001), evaluaron el efecto acaricida de extractos de *Artemisia absinthium* y *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) en el ácaro rojo de dos manchas en su etapa adulta, teniendo un efecto letal en los bioensayos realizados. El efecto acaricida fue atribuido al metabolito secundario alfa-cubebene presente en el extracto.

## 9.4 Evaluación de la actividad repelente

### 9.4.1 Repelencia en larvas neonatas

Los resultados de repelencia en larvas se muestran en la Tabla 9 donde se observa que los tratamientos con mayor actividad repelente fueron las concentraciones de 1000 y 1500 mg.L<sup>-1</sup> del extracto de *C. sinensis* con índices de repelencia de 20 y 30%, respectivamente, así como 1000 mg.L del extracto de *T. havanensis* (20%). De extracto de *C. sinensis* la concentración de 500 mg.L<sup>-1</sup> de este extracto provocó 20% de actividad atrayente para las larvas, mientras que el hidrolato ocasionó un nivel muy bajo de repelencia (10%) que no fue significativamente diferente a la observada con 500 mg.L<sup>-1</sup> del extracto.

**Tabla 9. Medianas de repelencia (M) en larvas neonatas de *Tetranychus urticae* tratados con extractos de *Citrus sinensis* y *Trichilia havanensis*.**

Tratamiento	<i>C. sinensis</i>	<i>T. havanensis</i>
-------------	--------------------	----------------------

	M [CI, CS]* (%)	M [CI, CS] (%)
Hidrolato	10.0 [-60.0, 40.0] a	-20.0 [-40.0, 20.0] a
500 mg.L <sup>-1</sup>	-20.0 [-20.0, 00.0] a	00.0 [-20.0, 20.0] a
1000 mg.L <sup>-1</sup>	20.0 [00.0, 20.0] ab	20.0 [00.0, 20.0] a
1500 mg.L <sup>-1</sup>	30.0 [00.0, 40.0] b	00.0 [00.0, 20.0] a

\* CI= Cuartil inferior, CS= Cuartil superior.

\*\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medianas de tratamientos (p<0.05).

No se encontraron trabajos registrados sobre el uso de extractos vegetales y su actividad repelente en larvas de *T. urticae*, sin embargo, ya se ha demostrado la acción repelente de diversos limonoides y su aplicación sobre araña roja, como el caso de Augustin *et al.* (2015) donde el uso de *A. indica* tuvo un decremento de la población de larvas de *T. urticae* en cultivo de tomate. En el caso del presente trabajo, se puede atribuir la actividad repelente del extracto de *C. sinensis* a los limonoides mayoritarios que constituyen al extracto vegetal, como son el limoneno y el squaleno, así como el tymol y el ácido linoleico del extracto de *T. havanensis*.

#### 9.4.2 Repelencia en hembras adultas

Los resultados del ensayo de repelencia con hembras adultas se presentan en la Tabla 10, donde se aprecia que el extracto de *C. sinensis* presentó de moderada a alta actividad repelente desde la concentración de 1000 mg.L<sup>-1</sup> con un índice del 60%, que resultó igual a la repelencia ocasionada con 1500 mg.L<sup>-1</sup> del extracto.

**Tabla 10. Medianas de repelencia (M) en hembras adultas de *Tetranychus urticae* tratadas con extractos de *Citrus sinensis* y *Trichilia havanensis*.**

Tratamiento	<i>C. sinensis</i> M [CI, CS]* (%)	<i>T. havanensis</i> M [CI, CS] (%)
Hidrolato	-10.0 [-20.0, 00.0] a	00.0 [-20.0, 20.0] a
500 mg.L <sup>-1</sup>	00.0 [-20.0, 20.0] a	-10.0 [-40.0, 20.0] a
1000 mg.L <sup>-1</sup>	60.0 [40.0, 80.0] b	10.0 [00.0, 20.0] a
1500 mg.L <sup>-1</sup>	60.0 [40.0, 80.0] b	20.0 [00.0, 40.0] a

\* CI= Cuartil inferior, CS= Cuartil superior.

\*\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medianas de tratamientos ( $p < 0.05$ ).

La actividad repelente del extracto de *C. sinensis* podría deberse a que, en el estado adulto, el ácaro ya ha desarrollado sedas sensitivas alrededor de su cuerpo que le ayudan a detectar agentes químicos de su entorno. No obstante, el carácter repelente de los limonoides presentes en el extracto de naranja ha sido evidenciado con anterioridad por Da Camara *et al.* (2015), que obtuvieron resultados semejantes al evaluar el extracto vegetal acuoso de *C. sinensis* en concentraciones de 1% del extracto vegetal en metanol con una repelencia mayor al 60%. Júnior *et al.* (2010), observaron efecto repelente mayor al 50% en una concentración al 2% del mismo extracto; este carácter repelente es atribuido al limoneno que es el compuesto mayoritario en el extracto de naranja caracterizado por los autores.

En el caso de *T. havanensis* (Tablas 9 y 10) no se obtuvo una diferencia significativa en la repelencia de larvas y adultos del ácaro rojo de dos manchas. No se encontraron reportes en la literatura científica de la actividad repelente de extractos de la planta en ácaros, sin embargo, Da Camara *et al.* (2021) evaluaron el efecto acaricida y repelente de *Croton* spp. en adultos de *T. urticae* y al realizar la caracterización de la planta señalaron el spathulenol (compuesto presente en el extracto de *T. havanensis* usado en el experimento), como compuesto mayoritario del extracto vegetal y responsable de un efecto letal y repelente mayor al 50% en bioensayos realizados con concentraciones de  $27.08 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ . El thymol fue evaluado por Tak & Isman (2017) en adultos de *T. urticae* y los autores reportaron actividad repelente cercana al 100 % con concentraciones de  $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  diluidos en acetona. Como se mencionó anteriormente, los diferentes compuestos presentes en el extracto vegetal han sido reportados por su actividad toxica en larvas y adultos del ácaro, sin embargo, no se observó actividad repelente significativa a las concentraciones evaluadas.

## 10. Conclusiones

- Los extractos de *C. sinensis* y *T. havanensis* tienen actividad sobre huevos, larvas y adultos de *T. urticae*.

- El extracto de *T. havanensis* tuvo la mayor incidencia en la viabilidad de huevecillos de *T. urticae* con un 45% de efecto ovicida a 1500 mg.L<sup>-1</sup>.
- El extracto de *C. sinensis* tuvo la mayor incidencia en la mortalidad de larvas y adultos de *T. urticae* con 45% y 50%, respectivamente, en concentraciones de 1500 mg.L<sup>-1</sup>.
- El extracto de *C. sinensis* tuvo el mayor porcentaje de repelencia en larvas y adultos de *T. urticae* con el 30% y 60%, respectivamente, en concentraciones de 1500 mg.L<sup>-1</sup>
- Los resultados muestran el potencial que tienen los extractos de *C. sinensis* y *T. havanensis* para el manejo de *T. urticae*.
- Se recomienda evaluar el efecto de los extractos en concentraciones más altas y evaluar sus efectos en invernadero y campo.

## 11. Recomendaciones

- Se recomienda evaluar el efecto de los extractos de *C. sinensis* y *T. havanensis* en diferentes estados biológicos de los enemigos naturales de *T. urticae*.

## 12. Bibliografía

- Abdelgaleil, S. A., Badawy, M. E., Mahmoud, N. F., Marei, A. E. S. M. (2019). Acaricidal activity, biochemical effects and molecular docking of some monoterpenes against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Pesticide biochemistry and physiology*, 156:105-115. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.02.006>
- Acosta-Maldonado B., Sánchez-Ramírez B., Reza-López S., Levario-Carrillo M. (2009). Effects of exposure to pesticides during pregnancy on placental maturity and weight of newborns: a cross-sectional pilot study in women from the Chihuahua State, Mexico. *Hum. Exp. Toxicol.* 28: 451-459. DOI: 10.1177/0960327109107045
- Acosta-Maldonado B., Sánchez-Ramírez B., Reza-López S., Levario-Carrillo M. (2009). Effects of exposure to pesticides during pregnancy on placental maturity and weight of newborns: a cross-sectional pilot study in women from the Chihuahua State, Mexico. *Hum. Exp. Toxicol.* 28: 451-459. DOI: 10.1177/0960327109107045

- Agrosamex-S.A. (12 de abril de 2019). Las plagas producen pérdidas de hasta un 40 por ciento en la producción agrícola, revela estudio de la FAO. Obtenido de Gobierno de México: <https://www.gob.mx/agroasemex/articulos/las-plagas-producen-perdidas-de-hasta-un-40-por-ciento-en-la-produccion-agricola-revela-estudio-de-la-fao?idiom=es>
- Agut, B., Pastor, B., Jaques, J. A., & Flors, V. (2018). Can plant defence mechanisms provide new approaches for the sustainable control of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*? International journal of molecular sciences 19: 614. DOI: 10.3390/ijms19020614
- Aguilar, M.S, Rodríguez, M. C. (2012). Acaricidas autorizados para el control de la araña roja *Tetranychus urticae* Koch, cultivo de rosa de *Corte Rosa spp.* Acarología Latinoamericana. pp. 257-263.
- Aissaoui, A. B., Bouayad, N., Zantar, S., El Amrani, (2020). A study of the effect of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: tetranychidae). URL: [https://www.researchgate.net/profile/Asmae-Aissaoui/publication/344451629\\_STUDY\\_OF\\_THE\\_EFFECT\\_OF\\_CITRUS\\_SINENSIS\\_AND\\_CITRUS\\_AURANTIUM\\_ESSENTIAL\\_OILS\\_ON\\_TETRANYCHUS\\_URTICAE\\_KOCH\\_ACARI\\_TETRANYCHIDAE/links/5f7705e3458515b7cf6061f3/STUDY-OF-THE-EFFECT-OF-CITRUS-SINENSIS-AND-CITRUS-AURANTIUM-ESSENTIAL-OILS-ON-TETRANYCHUS-URTICAE-KOCH-ACARI-TETRANYCHIDAE.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Asmae-Aissaoui/publication/344451629_STUDY_OF_THE_EFFECT_OF_CITRUS_SINENSIS_AND_CITRUS_AURANTIUM_ESSENTIAL_OILS_ON_TETRANYCHUS_URTICAE_KOCH_ACARI_TETRANYCHIDAE/links/5f7705e3458515b7cf6061f3/STUDY-OF-THE-EFFECT-OF-CITRUS-SINENSIS-AND-CITRUS-AURANTIUM-ESSENTIAL-OILS-ON-TETRANYCHUS-URTICAE-KOCH-ACARI-TETRANYCHIDAE.pdf)
- Aldana-Madrid M.L., Valenzuela-Quintanar A.I., Silveira- Gramont M.I., Rodríguez-Olibarría G., Grajeda-Cota P., Zuno-Floriano F.G., Miller M.G. (2011). Residual pyrethroids in fresh horticultural products in Sonora, Mexico. Bull. Environ. Contam. Tox. 87: 436-439. DOI: 10.1007/s00128-011-0391-z
- Alegre, A., Iannacone, J., Carhuapoma, M. (2017). Toxicidad del extracto acuoso, etanólico y hexánico de *Annona muricata*, *Minthostachys mollis*, *Lupinus mutabilis*, y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* y *Chrysoperla externa*. Chilean journal of agricultural & animal sciences, 33: 273-284. <https://www.scielo.cl/pdf/chjaasc/v33n3/0719-3890-chjaasc-00705.pdf>
- Arenas, C. & Rodríguez -Hahn, L. (1990). Limonoids from *Trichillia havanensis*. Phytochemistry 29: 2953-295. DOI: 10.1016/0031-9422(90)87113-9

- Ashrafju, M., Ahmadi, K., Hamidi, H. (2014). Different concentrations of *Melia azedarach* L. (Meliaceae) ethanolic extract on the developmental time and egg laying of *Tetranychus urticae* Koch. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47: 2242-2247.  
<https://doi.org/10.1080/03235408.2013.871791>
- ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2004), “Resumen de salud pública, Amoniac”. [Online]. Disponible en [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs126.pdf](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs126.pdf)
- Astier, M., Argueta, J., Orozco-Ramírez, M., González, J., Morales, P., Gerritsen, P., & Sánchez-Sánchez, C. (2017). Back to the roots: Understanding current agroecological movement, science, and practice in Mexico. Agroecology and Sustainable Food Systems, 41 329-348 .DOI: [10.1080/21683565.2017.1287809](https://doi.org/10.1080/21683565.2017.1287809)
- Asmaa A., Amal A. (2021). Efficacy of the volatile oils of the peels of two types of citrus fruits on spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) (Acari: *Tetranychidae*) and mite (*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henroit) (Acari: *Phytoseiidae*). Arabian Journal of Scientific Research 2021; 4 <https://www.qscience.com/content/journals/10.5339/ajsr.2021.4?crawler=true>
- Augustin, G., Kosma, P., Nestor, P., Tinkeu, L. (2015). Neem seed extract (*Azadirachta indica* A. Juss) (Meliaceae) protects tomato crops (*Lycopersicon esculentum* Miller) (Solanaceae) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) pests. International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 4: 190-198.  
<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=dd2f4b839cf4ddf154866f28d62fd81c8672ace9>
- Áćimović, M. G., Tešević, V. V., Smiljanić, K. T., Cvetković, M. T., Stanković, J. M., Kiproviski, B. M., & Sikora, V. S. (2020). Hydrolates: By-products of essential oil distillation: Chemical composition, biological activity, and potential uses. Advanced technologies, 9: 54-70. <https://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/2406-2979/2020/2406-29792002054A.pdf>
- Barriga S., M. E. (2021). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de la uva, orujo y semillas de vitis labrusca, obtenidos con líquidos presurizados. [Tesis de licenciatura no publicada] Universidad Autónoma de Ica.

<http://repositorio.autonmadeica.edu.pe/bitstream/autonmadeica/900/1/BARRIGA%20ANCHEZ%20MARITZA%20ELIZABETH.pdf>

Barros Gomes, P. R., de Assunção, G. V., Oliveira Everton, G., Souza de Lima, H., Fernandes de Araújo, J. R., Fonseca Silva, E., Mouchrek Filho, V. E. (2021). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of the bark of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 50: 48-60.

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0034-74182021000100048&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0034-74182021000100048&script=sci_arttext&tlng=en)

Blanco-Muñoz J., Lacasaña M., López-Flores I., Rodríguez-Barranco M., González-Alzaga B., Bassol S., Cebrian M.E., López-Carrillo L., Aguilar-Garduño C. (2016). Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. *Toxicology and applied pharmacology*. 243: 19-26. DOI: 10.1016/j.taap.2009.11.008

Blas-Espinoza, F. E., Fernández-Venturo, T. M. (2021). Actividad antibacteriana del aceite esencial de cáscaras de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck “Naranja” frente a *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 y *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 9027, *In Vitro*. [Tesis de licenciatura no publicada] Universidad María Auxiliadora.

<https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/475>

Bnina, E. B., Hajlaoui, H., Chaieb, I., Said, M. B., Jannet, H. B., & Daami-Remadi, M. (2019). Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the tunisian *Citrus aurantium* essential oils. *Czech Journal of Food Sciences*, 37: 81-92. DOI: 10.17221/202/2017-CJFS

Born, F. D. S., da Camara, C. A. G., de Melo, J. P. R., de Moraes, M. M. (2018). Acaricidal property of the essential oil from *Lippia gracilis* against *Tetranychus urticae* and a natural enemy, *Neoseiulus californicus*, under greenhouse conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 75: 491-502. [https://www.researchgate.net/profile/Joao-Melo-24/publication/327207018\\_Acaricidal\\_property\\_of\\_the\\_essential\\_oil\\_from\\_Lippia\\_gracilis\\_against\\_Tetranychus\\_urticae\\_and\\_a\\_natural\\_enemy\\_Neoseiulus\\_californicus\\_under\\_greenhouse\\_conditions/links/5b8da4d045851540d1c3d8d2/Acaricidal-property-of-the-](https://www.researchgate.net/profile/Joao-Melo-24/publication/327207018_Acaricidal_property_of_the_essential_oil_from_Lippia_gracilis_against_Tetranychus_urticae_and_a_natural_enemy_Neoseiulus_californicus_under_greenhouse_conditions/links/5b8da4d045851540d1c3d8d2/Acaricidal-property-of-the-)

essential-oil-from-Lippia-gracilis-against-Tetranychus-urticae-and-a-natural-enemy-Neoseiulus-californicus-under-greenhouse-conditions.pdf

CABI (2018). *Tetranychus urticae* (two-spotted spider mite). En línea: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/53366>. Fecha de consulta: junio de 2018.

Calderón, G., German T. (1993). Flora del bajío y de regiones adyacentes, Familia Meliaceae. Fascículo 11. México. URL:  
<http://incolbajio.inecol.mx/floradelbajio/documentos/fasciculos/ordinarios/Anacardiaceae%2078.pdf>

Camilo-Patiño, A., Benjumea, D. M., Pereañez, J. A. (2013). Inhibition of venom serineproteinase and metalloproteinase activities by *Renalmiaalpinia* (Zingiberaceae) extracts: Comparison of wild and in vitro propagated plants. Journal of Ethnopharmacology 149:590–596. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.07.033>

Chiasson, H., Bélanger, A., Bostanian, N., Vincent, C., Poliquin, A. (2001). Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. Journal of economic entomology, 94:167-171.

Chilón Camacho, E. (2017). Revolución Verde Agricultura y suelos, aportes y controversias. Aphthapi, 3:844-859. ISSN: 2519-9382.  
[https://www.researchgate.net/profile/Charles-Vincent-4/post/Whats-the-latest-and-useful-method-for-extract/attachment/5c936fc2cfe4a72994978872/AS%3A738847059107842%401553166274782/download/Chiasson\\_Artemisia-Acaricidal\\_3methods%28JEconEntomol-2001%29.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Charles-Vincent-4/post/Whats-the-latest-and-useful-method-for-extract/attachment/5c936fc2cfe4a72994978872/AS%3A738847059107842%401553166274782/download/Chiasson_Artemisia-Acaricidal_3methods%28JEconEntomol-2001%29.pdf)

Cermeli, M., Díaz, G. (2016). Control químico de insectos plaga. Venezuela: Universidad Central De Venezuela.  
[http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_agronomia/Zoologia\\_Agricola/Manejo\\_Integrado/Competencia2/GUIA\\_CONTROL\\_QUIMICO\\_FMIIP\\_2016.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Zoologia_Agricola/Manejo_Integrado/Competencia2/GUIA_CONTROL_QUIMICO_FMIIP_2016.pdf)

Cerna-Mejía, L. F., Torres-Orzelís, J. G. (2020). Obtención de aceite esencial a partir de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis* Var. Valencia) utilizando un sistema de hidrodestilación convencional acoplado a un equipo de microondas para su extracción

óptima. [Tesis de licenciatura no publicada] Universidad Nacional Mayor de San Marcos.  
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/17181/Cerna\\_ml.pdf?sequence=3](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/17181/Cerna_ml.pdf?sequence=3)

- Chan, W. R., Gibs, J.A., Taylor, D.R. (1973). Triterpenoids from *Trichillia havanensis* Jacq. Part. I. The acetates of Havenensin and Trichilenone, New Tetracarboxylic Tetranortriterpenes. *Journal of the Chemical Society*, 10: 1047-1050. DOI: [10.1039/P19730001047](https://doi.org/10.1039/P19730001047)
- Conde-Hernández, L. A., Botello-Ojeda, A. G., Alonso-Calderón, A. A., Osorio-Lama, M. A., Bernabé-Loranca, M. B., Chavez-Bravo, E. (2021). Optimization of extraction of essential oils using response surface methodology: A review. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24: 937-982. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1976286>
- Craig, P. S., Dujardin, B., Hart, A., Hernández-Jerez, A. F., Hougaard Bennekou, S., & Mohimont, L. (2020). Cumulative dietary risk characterisation of pesticides that have acute effects on the nervous system. *EFSA Journal*, 18:e06087. DOI: [10.2903/j.efsa.2020.6087](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6087)
- Dávila, T. L. A., Sierra, A. T. H. (2018). Revisión de alternativas sostenibles para el aprovechamiento del orujo de naranja. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 5: 9-32- DOI: [10.23850/24220582.1393](https://doi.org/10.23850/24220582.1393)
- De la Torre-Anzúres, J., Aragón-García, A., Pérez-Torres, B. C., López-Olguín, J. F. (2017). Actividad Biológica de un Extracto de Semillas de *Trichilia havanensis* Jacq. 1 sobre Larvas de *Spodoptera exigua* (Hübner) 2. *Southwestern Entomologist*, 42: 1069-1078. DOI: [10.3958/059.042.0401](https://doi.org/10.3958/059.042.0401)
- De Santana, M. F., Câmara, C., Monteiro, V. B., de Melo, J. R., de Moraes, M. M. (2021). Bioactivity of essential oils for the management of *Tetranychus urticae* Koch and selectivity on its natural enemy *Neoseiulus californicus* (McGregor): A promising combination for agroecological systems. *Acarology*, 61: 564-576. DOI: [10.24349/acarologia/20214451](https://doi.org/10.24349/acarologia/20214451)
- Da Camara, C. A., de Araujo, C. A., de Moraes, M. M., de Melo, J. P., Lucena, M. F. (2021). New sources of botanical acaricides from species of *Croton* with potential use in the integrated management of *Tetranychus urticae*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20:244-259.

<https://scholar.archive.org/work/w6cphskt3va5jmes64lpyvcyty/access/wayback/https://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/download/162/158/311>

- Da Camara, C. A. G., Akhtar, Y., Isman, M. B., Seffrin, R. C., Born, F. S. (2015). Repellent activity of essential oils from two species of *Citrus* against *Tetranychus urticae* in the laboratory and greenhouse. *Crop Protection*, 74, 110–115. DOI: 10.1016/j.cropro.2015.04.014
- Díaz-Arias, K. V., Rodríguez-Maciel, J. C., Lagunes-Tejeda, Á., Aguilar-Medel, S., Tejeda-Reyes, M. A., Silva-Aguayo, G. (2019). Resistance to abamectin in field population of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) associated with cut rose from state of Mexico, Mexico. *Florida Entomologist*, 102: 428-430. DOI: 10.1653/024.102.0222
- Don-Pedro, K. N. (1996). Fumigant toxicity is the major route of insecticidal activity of citrus peel essential oils. *Pesticide Science*, 46: 71-78. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199601\)46:1%3C71::AID-PS318%3E3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199601)46:1%3C71::AID-PS318%3E3.0.CO;2-J)
- Durán-Lara, E. F., Valderrama, A., Marican, A. (2020). Natural organic compounds for application in organic farming. *Agriculture*, 10: 41. DOI: [10.3390/agriculture10020041](https://doi.org/10.3390/agriculture10020041)
- EPPO. (2020). *Tetranychus urticae* (URTRUR). En línea: <https://gd.eppo.int/taxon/TETRUR>  
Fecha de consulta: mayo de 2020
- Escalante, M., Santos, I., Rojas, L. B., Velásquez, C. L. (2012). Aprovechamiento de desechos orgánicos: 1. Extracción y caracterización del aceite de semillas de naranja colectadas en expendios ambulantes de jugos. *Avances en Química*, 7:181-186.  
<https://www.redalyc.org/pdf/933/93325703004.pdf>
- Escobar, S., G. (2021). Efecto de las variables temperatura y tiempo en los procesos de extracción por maceración y ultrasonido sobre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de corteza de *Quercus crassifolia* utilizando la metodología de superficie de respuesta. [Tesis de maestría no publicada] Universidad Michoacana de San Nicolas Hidalgo.  
[http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB\\_UMICH/6408](http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/6408)

- Escobar, A., Perez, M., Romanelli, G., Blustein, G. (2020). Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13: 9243-9269.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535220304561>
- Espinoza, M. M. A., Narváez, E. A. G., López, I. S. G., & Barillas, R. (2021). Acción bactericida del aceite esencial de semillas *Citrus aurantium*, *C. sinensis*, *C. reticulata*. *Revista Científica de FAREM-Estelí*, 40: 118-134.  
<https://revistasnicaragua.cnu.edu.ni/index.php/RCientifica/article/download/7293/8862>
- Falconi-Palomino, J. (2013). Manejo integrado de plagas y enfermedades en el cultivo de kiwicha. Perú: Caraz-Huaylas-Ancash. URL: [https://www.agrobanco.com.pe/wp-content/uploads/2017/07/021-a-kiwicha\\_MIPE\\_.pdf](https://www.agrobanco.com.pe/wp-content/uploads/2017/07/021-a-kiwicha_MIPE_.pdf)
- FAO. (2021). Plagas y enfermedades de las plantas. noviembre 21, 2021, de FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO) Sitio web: <https://www.fao.org/emergencies/tipos-de-peligros-y-de-emergencias/plagas-y-enfermedades-de-las-plantas/es>
- Ferragut, F., Santonja, M (1989). Taxonomía y distribución de los ácaros del género *Tetranychus* Dufour 1832 (Acari: Tetranychidae), en España. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 15: 271-28. [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_plagas/BSVP-15-03-271-281.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-15-03-271-281.pdf)
- Flores-Villegas, Mónica Yazmín, González-Laredo, Rubén Francisco, Prieto-Ruíz, José Ángel, Pompa-García, Marín, Ordaz-Díaz, Luis Alberto, Domínguez-Calleros, Pedro Antonio. (2019). Eficiencia del extracto vegetal de *Datura stramonium* L. como insecticida para el control de la mosca sierra. *Madera y bosques*, 25; e2511642.  
<https://doi.org/10.21829/myb.2019.2511642>
- Frota, M. T. B. A., Siqueira, C. E. (2021). Pesticidas: los venenos ocultos en nuestra mesa. URL: <https://www.scielo.org/article/csp/2021.v37n2/00004321/es/>
- García-Gómez, A., Figueroa-Brito, R., Serrano, L. G., Jiménez-Pérez, A. (2018). *Trichilia* (Meliaceae) plants: an important source of biomolecules with insecticidal properties. *Florida Entomologist*, 101: 470-479. DOI: 10.1653/024.101.0305

- García-Hernández, J., Leyva Morales, J. B., Martínez Rodríguez, I. E., Hernández Ochoa, M. I., Aldana Madrid, M. L., Rojas García, A. E., Perera Ríos, J. H. (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México. CONACYT.URL:  
<http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/1085>
- García, F. O.(2019)” El ciclo del nitrógeno en sistemas agrícolas”, [Online]. Disponible En:  
<http://www.econoagro.com/images/stories/pdf/agricultura/CicloNitrogeno.pdf>
- Germán, M. (2005). Flora de Guerrero. 31 *Meliaceae*. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de México. 38  
[pp.ibiologia.unam.mx%2FBIBLIO68%2Ffulltext%2Ffasiculosfloras%2Ff42\\_meli.pdf&clen=13590727&chunk=true](http://ibiologia.unam.mx%2FBIBLIO68%2Ffulltext%2Ffasiculosfloras%2Ff42_meli.pdf&clen=13590727&chunk=true)
- Golec, J.R., Hoge, B., Walgenbach, J.F. (2020). Effect of biopesticides on different *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) life stages. Crop Protection (Guildford, Surrey) 128: 105015. <https://www.sciencedirect.com/science/article/am/pii/S0261219419303618>
- Hassan, M. F., El-Badawy, S. S., Draz, M. G., & Ibrahim, E. S. (2021). New acaricidal activities and chemical compositions of orange oil and extracts of (wild mint and henna) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari.: Tetranychidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection, 54(19-20), 1848-1863.
- Huarcaya L. F. (2021). Rendimiento y evaluación de algunas propiedades físicas del aceite esencial obtenida por el método de arrastre con vapor de agua de las hojas de *Eucalyptus urophylla x Eucalyptus grandis* de plantación en la Universidad Nacional de Ucayali. [Tesis de licenciatura no publicada] Ubiversidad Nacional de Ucayali.  
[http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4883/UNU\\_FORESTAL\\_2021\\_T\\_FE\\_LIPE\\_HUARCAYA.pdf?sequence=1](http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4883/UNU_FORESTAL_2021_T_FE_LIPE_HUARCAYA.pdf?sequence=1)
- Jaramillo, B. E., Duarte, E., Delgado, W. (2012). Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 17: 54-64. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962012000100006&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962012000100006&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Júnior, C. P. A., Gomes da Camara, C. A., Neves, I. A., de Carvalho Ribeiro, N., Gomes, C. A., Martins de Moraes, M., de Sousa Botelho, P. (2010). Acaricidal Activity against

*Tetranychus urticae* and Chemical Composition of Peel Essential Oils of Three *Citrus* Species Cultivated in NE Brazil. Natural Product Communications, 5:  
<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X1000500326>

Hernández-Antonio, Arturo, Hansen, Anne M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. Revista internacional de contaminación ambiental, 27:115-127

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992011000200003&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992011000200003&lng=es&tlng=es)

Hernández-Carillo, J. G., Valdez-Fragoso, A., Welti-Chanes, J., Mujica-Paz, H. (2015). Tracing phenolic compounds through manufacturing of edible films from orange and grapefruit peels. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 14:567-578. ISSN: 1665-2738

Herrera-Gorocica, A. M., Hernández-Núñez, E., Calvo, I. L. M., Sánchez-Contreras, Á., Ruiz-Jiménez, A. L., Latournerie-Moreno, L., Ballina-Gómez, H. S. & Ruiz-Sánchez, E. (2023). Effect of the essential oil of *Lippia origanoides* Kunth and two of its volatile organic compounds on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and *Bemisia tabaci* Genn (Hemiptera: Aleyrodidae) in greenhouse. Tropical and Subtropical Agroecosystems 26: 1-14.

Hocayen, P. A. S., Pimenta, D. S. (2013). Extrato de plantas medicinais como carrapaticida de *Rhipicephalus microplus*. (Boophilus) Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 15: 627-631. DOI: /10.1590/S1516-05722013000500001

Lee MW, Lee DH, Nam I, Lee JW, Huh MJ, Roh GH, Park IK. (2022). Acaricidal activities of *Dioscorea japonica* Thunb. (Dioscoreales: Dioscoreaceae) Extract and its constituents against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Trombidiformes: Tetranychidae). Journal Economic Entomology 14;115(6):1921-1929. doi: 10.1093/jee/toac164. PMID: 36287632

Luzuriaga, M. B. B., Kajek, A. L. Q., Cedeño, L. A. V., Salazar, M. T. A. (2019). Extracción de aceite esencial de *Origanum vulgare* y determinación del efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*. MUNDO RECURSIVO, 2: 58-72.

[https://www.academia.edu/download/65503379/5\\_Extraccion\\_de\\_aceite\\_esencial\\_de\\_Origanum\\_vulgare\\_y\\_determinacion\\_del\\_efecto\\_antibacteriano\\_sobre\\_Escherichia\\_coli.pdf](https://www.academia.edu/download/65503379/5_Extraccion_de_aceite_esencial_de_Origanum_vulgare_y_determinacion_del_efecto_antibacteriano_sobre_Escherichia_coli.pdf)

- López-Malo, A., Palou, E., Leon-Cruz, R., Alzamora, S. (2005). Mixtures of natural and synthetic antifungal agents. *Advances in Food Mycology*. 57: 261-286. DOI: 10.1007/0-387-28391-9\_18
- López-Olguín, J.F., Budía, F., Castañera, P., Viñuela, E. (1997). Actividad de *Trichillia havanensis* Jacq. (Meliaceae) sobre las larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidóptera: Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas* 23: 3-10. URL: [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_plagas/BSVP-23-01-003-010.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-23-01-003-010.pdf)
- Lucie, A., Wango, S. P., Ephrem, K. K. K. K., Namkossereña, S., Bolevane-Ouatinam, S. F., Lakouetene, D. P. (2016). The effective insecticidal activity of the two extracts ethyl acetate and hexane of *Trichilia gilgiana* against *Sitophilus zeamais*. *International Journal of Biology*, 8: 23-31
- Lugo-Sánchez, M. Á., Flores-Canales, R. J., Isiordia-Aquino, N., Lugo-García, G. A., Reyes-Olivas, Á. (2019). Ácaros fitófagos asociados a jitomate en el norte de Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10: 1541-1550. DOI: 10.29312/remexca.v10i7.1756
- Luna-Guevara, J. J., Hernández, M., Arenas-Hernández, M. M. P., Luna-Guevara, M. L. (2021). Effect of essential oils of oregano (*Origanum vulgare*), thyme (*Thymus vulgaris*), orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) in the vapor phase on the antimicrobial and sensory properties of a meat emulsion inoculated with *Salmonella enterica*. *Food Research*, 5: 306-312.
- Majeed, M. Z., Nawaz, M. I., Khan, R. R., Farooq, U., & Ma, C. S. (2018). Insecticidal effects of acetone, ethanol and aqueous extracts of *Azadirachta indica* (A. Juss), *Citrus aurantium* (L.), *Citrus sinensis* (L.) and *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnh.) against mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 21.
- Maldonado-Michel, M. A., Muñoz-Valencia, R., Peraza-Campos, A. L., Parra-Delgado, H., Chan-Cupul, W. (2022). Acaricidal, ovicidal and fagoinhibition activities of seed extracts

from *Swietenia humilis* against *Tetranychus urticae* under laboratory conditions. *Industrial Crops and Products*, 177: 114494.

Martínez, A. (2003). *Aceites esenciales*. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.  
<http://farmacia.udea.edu.co/ff/esencias2001b.pdf>, accesado: 04/12/2018

Martínez-Alva, G., Gheno-Heredia, Y- A., Vieyra-Reyes, P., Martínez-Campos, Á. R., Castillo-Cadena, J., López-Arriaga, J. A., Manzur-Quiroga, M., Arteaga-Reyes, T. T.. (2020). Geodisponibilidad de elementos potencialmente tóxicos en suelos agrícolas que representan riesgo para el ambiente y la salud de la población del Nevado De Toluca, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 36:, 847-856. DOI: [10.20937/rica.53614](https://doi.org/10.20937/rica.53614)

Mello, V., Vilela, F., Daemon, E., Prata, M., Amaral, M. (2015). Eficácia carrapaticida de formulações contendo óleo essencial e hidrolato de *Rosmarinus officinalis*. *Biotechnology Revista de Biotecnologia & Ciência*, 4(1): 1. II Congresso de Ciências Farmacêuticas do Brasil Central. Universidade Estadual de Goiás, Brasil.

Marçal, J. F. (2020). Differential toxicity and resistance of the spider mite *Tetranychus urticae* and the predator *Neoseiulus californicus* to the acaricides cyflumetofen and diafenthiuron. Instituto Biológico [Tesis de maestría no publicada]  
<http://repositoriobiologico.com.br/jspui/handle/123456789/781>

Mendoza-Léon, D., Dobronski-Arcos, J., Vásquez-Freytez, C., Frutos-Pinto, V., Paredes-Carreño, S. (2019). Control de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) con *Bacillus subtilis* en hojas de fresa (*Fragaria vesca*). *Agronomía Costarricense*, 43:125-133. DOI: [10.15517/rac.v43i1.35676](https://doi.org/10.15517/rac.v43i1.35676)

Meza-Ipanaqué, E. I. (2017). Extracción y evaluación del aceite esencial de las cáscaras de la naranja dulce (*Citrus sinensis*) (Tesis doctoral no publicada) Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.

Nana, O., Momeni, J., Tepongning, R. N., Ngassoum, M. B. (2013). Phytochemical screening, antioxidant and antiplasmodial activities of extracts from *Trichilia roka* and *Sapium ellipticum*. *The journal of Phytopharmacology*, 2: 22-29.

- Nicholls, C., Altieri, M. Á. (2019). Bases agroecológicas para la adaptación de la agricultura al cambio climático. Cuadernos de Investigación UNED, 11:55-61. URL: <[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1659-42662019000100055&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-42662019000100055&lng=en&nrm=iso)>. access on 21 Nov. 2021.
- Noguera-Talavera, Á., Salmerón, F., Reyes-Sánchez, N. (2019). Bases teórico-metodológicas para el diseño de sistemas. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo, 51: 273-293. ISSN (en línea) 1853-8665.
- Numa, S., Rodríguez-Coy, L., Rodríguez, D., Coy-Barrera, E. (2018). Examination of the acaricidal effect of a set of colombian native plants-derived extracts against *Tetranychus urticae* Koch under laboratory conditions. Journal of Biopesticides, 11:30-37. [http://www.jbiopest.com/users/LW8/efiles/vol\\_11\\_1\\_30-37.pdf](http://www.jbiopest.com/users/LW8/efiles/vol_11_1_30-37.pdf)
- Núñez, M. (2007). Introducción general al control de plagas, Formación y asesoría de empresa en saneamiento ambiental. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1-12. URL: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Ingenie/nu%C3%B1ez\\_mm/cap3.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Ingenie/nu%C3%B1ez_mm/cap3.pdf)
- Obregón, M. (2018) Análisis comparativo de la hidrodestilación con el arrastre de vapor para la extracción de aceites esenciales de la cascara de naranja. [Tesis de licenciatura] Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/2088/OBREGON%20MARIANO%20EDUARDO%20WILMAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ortiz-Yam, I., & Cecilia-Zulueta, M. (2020). Asuntos de vecinos: langosta, defensa agrícola y la construcción de la sanidad vegetal en México y Centroamérica, Siglo XX. Historia Mexicana, 70: 313-372 DOI: 10.24201/hm.v70i1.4081
- Passos, M. S., Nogueira, T. S. R., de Aquino Azevedo, O., Vieira, M. G. C., da Silva Terra, W., Braz-Filho, R., Vieira, I. J. C. (2021). Limonoids from the genus *Trichilia* and biological activities. Phytochemistry Reviews, 1-32. DOI: 10.1007/s11101-020-09737-x
- Pavela, R. (2016). History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects - A review. Plant Protection Science, 52: 229–241. DOI: 10.17221/31/2016-PPS

- Perdomo D. 2015. Extracción y evaluación de rendimientos de los aceites esenciales del *árbol Aniba Perutilis Hemsley* (Comino) mediante el método de arrastre con vapor. [Tesis de licenciatura] Universidad Nacional Abierta y a Distancia CEAD Florencia. España.  
<https://repository.unad.edu.co/handle/10596/3456>
- Peredo, H., Palou, E., López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. Temas selectos de ingeniería de alimentos, 3: 24-32. [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
- Perineau, F., Ganou, L., Vilarem, G. (1992). Studying production of lovage essential oils in a hydrodistillation pilot unit equipped with a cohobation system. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 53:165-171. DOI: 10.1002/jctb.280530210
- Perumal, A., Krishna, N., Babu, S., Pillay, K., Govender, P. (2020). Phytochemical composition and biological investigation of *Trichilia emetica* Vahl. seed extracts. Letters in Applied NanoBioScience, 9: 1111-1116 .
- Praloran, J. C. (1977). Los agrios. Primera edición Ed. Blume. España, pag 483.
- Reséndiz–García B., Castillo-Olivas O. (2018). Biología del ácaro de dos manchas *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) en laboratorio en Chapingo, Estado de México. Entomología mexicana, 5: 40-45. <https://socmexent.org/entomologia/revista/2018/AA/AA%20040-045.pdf>
- Rodríguez, Á. P., Cabrera, F. Á., León, J. A. A., Vargas, I. O. (2017). Perspectivas de la contaminación del acuífero en Yucatán, México: plaguicidas y metales pesados. [https://www.researchgate.net/publication/319532214\\_Perspectivas\\_de\\_la\\_contaminacion\\_del\\_acuifero\\_en\\_Yucatan\\_Mexico\\_plaguicidas\\_y\\_metales\\_pesados?enrichId=rgreq-68ac32aa364a88d684db225b713e5dba-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzMxOTUzMjIxNDtBUzo1MzYwMjY5Njk0NTY2NDFAMTUwNDgxMDE5NjIyNw%3D%3D&el=1\\_x\\_2&\\_esc=publicationCoverPdf](https://www.researchgate.net/publication/319532214_Perspectivas_de_la_contaminacion_del_acuifero_en_Yucatan_Mexico_plaguicidas_y_metales_pesados?enrichId=rgreq-68ac32aa364a88d684db225b713e5dba-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzMxOTUzMjIxNDtBUzo1MzYwMjY5Njk0NTY2NDFAMTUwNDgxMDE5NjIyNw%3D%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf)
- Rodríguez-Cabrera, M., Pérez-Torres, B., Aragón-García, A., Ortiz-García, C., Marco Mancebón, V., López-Olguín, J. (2022). Evaluation of ovicidal activity of plant extracts on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Revista de la Facultad de Agronomía, 39: e223945. [https://doi.org/10.47280/revfacagron\(luz\).v39.n3.11](https://doi.org/10.47280/revfacagron(luz).v39.n3.11)

- Rodríguez, M., Alcaraz, L. Real, M. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C.<http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/1402>
- Ruiz-Coral, J., Bravo-Mosqueda, E., Ramirez-Ojeda, G., Báez-González, A. D., Álvarez-Cilva, M., Ramos-González, J., Byerly-Murphy, K. (2016). Plagas De Importancia Económica En México: Aspectos de su biología y ecología . México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
- Santamaria, M. E., Arnaiz, A., Rosa-Diaz, I., González-Melendi, P., Romero-Hernandez, G., Ojeda-Martinez, D. A., Diaz, I. (2020). Plant defenses against *Tetranychus urticae*: mind the gaps. *Plants*, 9: 464. DOI: [10.3390/plants9040464](https://doi.org/10.3390/plants9040464)
- Sato, M. E., da Silva, M. Z., da Silva, R. B., de Souza, M. F., Raga, A. (2021). Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a abamectin e fenpyroximate em diversas culturas no Estado de São Paulo. *Arquivos do instituto biológico*, 76: 217-223. DOI: [10.1590/1808-1657v76p2172009](https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p2172009)
- Schmidt-Jeffris, R. A., Cutulle, M. A. (2019). Non-target effects of herbicides on *Tetranychus urticae* and its predator, *Phytoseiulus persimilis*: implications for biological control. *Pest management science*, 75: 3226-3234. DOI: [10.1002/ps.5443](https://doi.org/10.1002/ps.5443)
- Schoch CL, NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020: [baaa062](https://doi.org/10.1093/database/baaa062). PubMed: [32761142](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32761142/) PMC: [PMC7408187](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC7408187/).
- SENA (Servicio Nacional de Aprendizaje). (2004). Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales Extraídos de Plantas Aromaticas. Medellin, Colombia: SENA.
- Sevillano, R., Siche, R., Castillo, W., & Silva, E. (2019). Optimización de la extracción por arrastre de vapor de aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) utilizando diseños secuenciales. *Manglar*, 16: 53-61. DOI: [10.17268/manglar.2019.008](https://doi.org/10.17268/manglar.2019.008)
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2020) Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. URL: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Abril 2020)
- Silveria-Garmont, M., Aldana-Madrid, L., Piri-Santana, M., Jasa-Silveria, G. (2018). Plaguicidas agrícolas: un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en

- el estado de Sonora, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34: 7-21. DOI: 10.20937/rica.2018.34.01.01
- Sosa-Baldiva, A., & Ruiz-Ibarra, G. (2017). La disponibilidad de alimentos en México: un análisis de la producción agrícola de 35 años y su proyección para 2050. *Papeles de Población*, 23: 207-230.
- Sun, Y., Liu, T., Sun, C., Luo, Q. (2022). Chemical Constituents of *Plectranthus tomentosus* extract and Its Control Effect on *Tetranychus kanzawai*. *Journal of Chemistry* 2022: 1–6
- StatPoint Technologies, Inc., 2009. User Manual.
- Tak, J. H., Isman, M. B. (2017). Acaricidal and repellent activity of plant essential oil-derived terpenes and the effect of binary mixtures against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 108: 786-792.
- Tang, Q. G., Luo, X. D. (2011). Meliaceous limonoids: chemistry and biological activities. *Chemical reviews*, 111: 7437-7522.
- Toapanta I., J. E. (2021). Evaluación de tres extractos vegetales para el control de ácaros (*Tetranychus urticae* Koch) en hojas de fresa (*Fragaria x annassa*) [Tesis de licenciatura no publicada] Universidad Técnica de Ambato.  
<https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/3194>
- Toro, A. M. B., Piedra, J. L. L. (2019). Obtención de aceite esencial de molle (*schinus molle* l.) y su evaluación antifúngica sobre *Colletotrichum spp. In vitro*. *Revista Científica Institucional TZHOECOEN*, 11: 101-109.
- Ullah, M. S., Lim, U. T. (2017). Synergism of *Beauveria bassiana* and *Phytoseiulus persimilis* in control of *Tetranychus urticae* on bean plants. *Systematic and Applied Acarology*, 22: 1924-1935. DOI:10.11158/saa.22.11.11
- Velázquez, R. (2019). Influencia de la madurez en el rendimiento y las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial del fruto de naranjo tipo valencia. [Tesis de maestría no publicada] Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.  
<https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1051/TTMAI1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Villegas-Elizalde, S. E., Rodríguez-Maciel, J. C., Anaya-Rosales, S., Sánchez-Arroyo, H., Hernández-Morales, J., Bujanos-Muñiz, R. (2010). Resistencia a acaricidas en *Tetranychus urticae* (Koch) asociada al cultivo de fresa en Zamora, Michoacán, México. *Agrociencia*, 44: 75-81. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952010000100007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952010000100007&lng=es&tlng=es).
- Villavicencio-Nieto, M. Á., Pérez-Escandón, B. E., Gordillo-Martínez, A. J. (2010). Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. *Polibotánica*, 30: 193-238. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-27682010000200012&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682010000200012&lng=es).
- Wagan, T. A., Cai, W. & Hua, H. (2018). Repellency, toxicity, and antioviposition of essential oil of *Gardenia jasminoides* and its four major chemical components against whiteflies and mites. *Scientific Reports* 8:9375 | DOI:10.1038/s41598-018-27366-5
- Wankat, P. C. (1988). Equilibrium staged separations. Separations in chemical yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, 99: 19-23
- Wu, M., Adesanya, A. W., Morales, M. A., Walsh, D. B., Lavine, L. C., Lavine, M. D., Zhu, F. (2019). Multiple acaricide resistance and underlying mechanisms in *Tetranychus urticae* on hops. *Journal of Pest Science*, 92: 543-555. DOI: 10.1007/s10340-018-1050-5
- Yañez, X., Lugo, L., Parada, D. (2007). Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad valenciana) cultivada en Labateca, norte de Santander Colombia. *Revista Bistua*, 5: 3-8. <https://www.redalyc.org/pdf/903/90350101.pdf>
- Yu, J., Wang, L., Walzem, R. L., Miller, E. G., Pike, L. M., Patil, B. S. (2005). Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 2009-2014.